



# **CARACTERIZAÇÃO DO CACAU CATONGO DE SÃO TOMÉ E PRÍNCIPE**

**Patrícia Godinho Batalha**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Engenharia Alimentar – Tecnologia dos Produtos Vegetais**

Orientador: Doutora Maria Helena Guimarães de Almeida

Co- orientador: Mestre Severino Neto do Espírito Santo

## **Júri:**

Presidente: Doutor Bernardo Manuel Teles de Sousa Pacheco de Carvalho, Professor Associado do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Doutora Maria Helena Guimarães de Almeida, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Doutor António Eduardo Baptista Leitão, Investigador Auxiliar do Instituto de Investigação Científica Tropical

Mestre Severino Neto do Espírito Santo, na qualidade de especialista

Lisboa, 2009

## **Agradecimentos**

- ◆ Aos meus Pais, irmão, cunhada e Nelson, pela paciência e amor demonstrado ao longo dos meus anos de curso;
- ◆ Ao meu pequenino e querido sobrinho por todas as alegrias e carinhos dados à Titi;
- ◆ Às minhas amigas e colegas de curso, Mara Carvalheira, Tânia Martins, Joana Santos e Inês Guedes, pelo companheirismo e respectivas paródias;
- ◆ À Prof. Maria Helena Guimarães de Almeida, por toda ajuda e apoio que me deu ao longo deste trabalho, assim como pela revisão cuidada do texto;
- ◆ Ao Engenheiro Severino Espírito Santo, pela amável colaboração no fornecimento e esclarecimentos sobre as amostras de cacau provenientes de São Tomé e Príncipe;
- ◆ Ao Engenheiro Eduardo Leitão e à Técnica Elisabete Lopes do Laboratório ECO-BIO/ Instituto de Investigação Científica Tropical, pela disponibilidade e gentil colaboração na determinação da (-) epicatequina e procianidinas;
- ◆ À Engenheira Paula Vasconcelos e colaboradores do Laboratório de Estudos Técnicos (L.E.T.)/ Instituto Superior de Agronomia, pela amável colaboração nas provas sensoriais e determinação do teor em ácidos gordos e triacilgliceróis.
- ◆ À Doutora Maria Céu Silva e Doutora Andreia Sofia Loureiro do Centro de Investigação da Ferrugem do Cafeeiro/Instituto de Investigação Científica Tropical, pela disponibilidade e gentil colaboração na observação das imagens da estrutura celular dos cotilédones do cacau, e também à Técnica Paula Leandro, pela amável colaboração nos cortes das sementes.
- ◆ À Técnica Manuela de Sousa do Laboratório TROPOEIRAS – Mendes Ferrão/ Instituto de Investigação Científica Tropical, pela disponibilidade e gentil colaboração na torra das sementes e espectrofotometria.

## **Resumo**

O cacau Catongo é considerado uma mutação do cacau Forastero, dado possuir frutos com características deste tipo à excepção da coloração dos cotilédones da semente, que não apresenta o pigmento antociânico. Pouco se conhece sobre a sua qualidade, quer como cacau comercial, quer incorporado no chocolate.

O objectivo deste trabalho consiste em estudar sementes não fermentadas e sementes fermentadas de Cacau Catongo de modo a avaliar as suas características de qualidade em termos físico-químicos e sensoriais.

Estudam-se três amostras de cacau provenientes de São Tomé e Príncipe, cacau Catongo, cacau Amelonado e cacau Amelonado Híbrido.

A avaliação da qualidade físico-química do cacau foi efectuada procedendo à determinação da massa média das sementes, da acidez, do teor de gordura, dos ácidos gordos, dos triacilgliceróis e ainda a determinação do teor fenóis totais e da (-)epicatequina e procianidinas. A análise sensorial incidiu em bombons de chocolate confeccionados com sementes dos três tipos de cacau.

Dos nossos resultados obtidos destacam-se os valores superiores de teor de gordura do cacau Catongo, e, as maiores quantidades dos ácidos insaturados oleico e linoleico.

Os chocolates confeccionados com cacau Catongo apresentam coloração castanha menos intensa e sabor mais doce e com menor intensidade a cacau.

### **Palavras-chave:**

Cacau Catongo; qualidade; gordura; polifenóis; análise sensorial; São Tomé e Príncipe.

## **Abstract**

Catongo Cocoa is considered a Forastero cocoa mutation, have fruit characteristics of this type except the color of the cotyledons of the seed, which don't presents the anthocyanin pigment. Little is known about their quality, either as cocoa trade, or incorporate into the chocolate.

The aim of this work is to study seed unfermented and fermented seeds of Catongo Cocoa in order to assess their quality characteristics in physical, chemical and sensory. We study three samples of cocoa from São Tomé and Príncipe, Catongo cocoa, Amelonado cocoa and Amelonado Hybrid cocoa.

The assessment of physical and chemical quality of the cocoa was made proceeding to determine the average mass of seeds, acidity, fat, fatty acids, triglycerides and also the determination of total phenols and (-) epicatechin and procyanidins. The sensory analysis focused on chocolate candies made of seeds of the three types of cocoa.

From our results highlight the values of higher-fat cocoa Catongo, and the higher amounts of unsaturated acids oleic and linoleic. The chocolate made with Catongo cocoa have less intense brown color and sweeter flavor and to a lower intensity cocoa.

## **Keywords:**

Catongo Cocoa; quality; fat; polyphenols; sensory analysis; São Tomé and Príncipe.

## Extended Abstract

Catongo Cocoa is considered a Forastero cocoa mutation, have fruit characteristics of this type except the color of the cotyledons of the seed, which don't presents the anthocyanin pigment gene due to an inhibitor that blocks the action of enzymes responsible for synthesis of anthocyanins.

For the quality and cocoa trade, are pointed characteristics similar to Criollo cocoa, although this has not been scientifically proven.

This type of cocoa is widely used in genetic studies, it is highly susceptible to "Witches broom" (*Crinipellis perniciosa*) and has moderate resistance to the "Brown rot" (*Phytophthora spp.*). The absence of disease "Witches broom" in São Tomé and Príncipe could prove a very interesting factor for the culture of these plants in the country.

The aim of this work is to study seed unfermented and fermented seeds of Catongo Cocoa in order to assess their quality characteristics in physical, chemical and sensory. We study three samples of cocoa from São Tomé and Príncipe, Catongo cocoa, Amelonado cocoa and Amelonado Hybrid cocoa.

The quality of the cocoa trade in the industry can be evaluated by different parameters including: the weight loss on drying (moisture), content of ether extract (fat), acidity, the average weight of seeds, the concentration of shell, the health aspect, the flavour and uniformity of the seed.

The assessment of physical and chemical quality of the cocoa was made proceeding to determine the average mass of seeds, acidity, fat, fatty acids by gas chromatography, and triglycerides by HPLC, the latter parameters for fat are important for industry in determining the yield / quality cacao butter and hence its commercial value. Still in the experimental part of this work shall be an determination pH, acidity and volatile acidity, determine the total phenol content by the method of Folin - Ciocalteau, and the content of (-) epicatechin and procyanidins by HPLC, these compounds during the technology specifically during the fermentation and drying, are subject to changes that lead to a decrease in their levels. The sensory analysis focused on chocolate candies made of seeds of the three types of cocoa. The chocolates were tasted, we evaluate the sensory attributes such as appearance, smell, taste and texture and proceed to the statistical treatment of overlays.

From our results highlight the values of higher fat content (58.8 and 62.4% respectively in the seeds unfermented and fermented) in Catongo cocoa, and the higher amounts of unsaturated acids oleic and linoleic. Detected the presence of SOO and SLP, absent in the other two types of cocoa studied. The content of total phenols, (-) epicatechin and procyanidins decrease during fermentation and drying. In unfermented seeds, the total phenols, in Catongo cocoa have the lowest value (82.37 mg ác. Gallic acid / g dry defatted cocoa).

The chocolate made with Catongo cocoa have less intense brown color and sweeter flavor and to a lower intensity cocoa.

**Keywords:**

Catongo Cocoa; quality; fat; polyphenols; sensory analysis; São Tomé and Príncipe.

1.Introdução .....	7
2. Da planta ao chocolate .....	8
2.1 Nota Histórica .....	8
2.2. Planta .....	9
2.2.1 Características edafo- climáticas .....	9
2.2.2 Características botânicas.....	10
2.2.3 Tipos de cacauero/ distinção dos tipos.....	10
2.2.4 Cacau Amelonado .....	11
2.2.5 Cacau Catongo.....	12
2.3 Tecnologia Pós – Colheita .....	15
2.3.1 Colheita .....	15
2.3.2 Quebra.....	16
2.3.3 Fermentação.....	16
2.3.3.1 Fermentação Externa.....	17
2.3.3.2 Fermentação Interna.....	17
2.3.3.3 Avaliação do grau de fermentação.....	19
2.3.4 Secagem .....	20
2.3.5 Limpeza, Calibração e armazenamento.....	20
2.4. Qualidade do cacau comercial.....	21
2.5. Produção de pasta de cacau .....	23
2.5.1 Torra.....	24
2.5.2 Quebra e separação .....	24
2.5.3 Trituração .....	25
2.6. Manteiga de cacau .....	25
2.6.1. Composição química .....	25
2.6.2 Extracção da manteiga de cacau.....	27
2.6.3 Cristalização e polimorfismo .....	27
2.6.4 <i>Fat Bloom</i> .....	28
2.7. Produção de chocolate .....	29
2.7.1 Mistura.....	29
2.7.2 Refinação .....	30
2.7.3 Conchagem .....	30
2.7.4 Temperagem .....	31
2.7.5 Moldagem.....	31

2.7.6 Embalamento.....	32
2.7.7 Armazenamento .....	32
3. Análise Sensorial. Alguns Conceitos .....	32
3.1 Atributos sensoriais .....	33
3.1.1 Cheiro e Aroma.....	33
3.1.2 Sabor.....	34
3.1.3 Aparência .....	35
3.1.4 Textura .....	35
3.1.5 <i>Flavour</i> .....	35
3.2 Tipos de testes sensoriais .....	35
3.2.1 Método Analítico e Discriminativo .....	35
3.2.2 Método Descritivo .....	36
3.2.3 Método de Preferência/ Aceitação .....	36
3.2.4 Método de Sensibilidade.....	36
3.3 Condições gerais para a análise sensorial.....	37
3.3.1 Ambiente de preparação das amostras.....	37
3.3.2 Ambiente de teste.....	37
4. Parte Experimental.....	38
4.1 Introdução .....	38
4.2 Material.....	38
4.3 Métodos.....	39
4.3.1 Massa de 100 sementes.....	39
4.3.2 Determinação da perda de massa por secagem (humidade) .....	39
4.3.3 Determinação do teor de gordura (extracto etéreo).....	39
4.3.4 Determinação dos ácidos gordos.....	40
4.3.5 Determinação dos triacilgliceróis.....	42
4.3.6 Determinação do pH e acidez titulável .....	43
4.3.7 Determinação da acidez volátil .....	43
4.3.8 Determinação do teor de fenóis totais.....	43
4.3.9 Determinação do teor de (-)epicatequina e procianidinas .....	45
4.3.10 Confeção dos chocolates e Análise Sensorial.....	47
4.3.11 Tratamento estatístico .....	47
4.4 Resultados e Apreciação .....	48
4.4.1 Caracterização físico-química geral .....	48
4.4.1.1 Massa das sementes .....	48
4.4.1.2 Teor de humidade .....	49
4.4.1.3 Teor de gordura (extracto etéreo) .....	49



4.4.1.4 Acidez .....	50
4.4.2 Composição da gordura.....	52
4.4.2.1 Ácidos Gordos .....	52
4.4.2.2 Triacilgliceróis .....	54
4.4.3 Polifenóis .....	56
4.4.3.1 Fenóis Totais .....	57
4.4.3.2 (-)Epicatequina e procianidinas .....	58
4.4.4 Análise Sensorial .....	61
5. Conclusões .....	63
Referências Bibliográficas .....	65
Anexos	

## Lista de Quadros

Quadro I – Características das populações Criollo, Forastero e Trinitário. ....	10
Quadro II - Caracterização das principais enzimas que actuam durante a fermentação.....	18
Quadro III – Composição da manteiga de cacau em ácidos gordos. ....	26
Quadro IV – Composição da manteiga de cacau em triacilgliceróis. ....	26
Quadro V - Amostras de cacau. ....	39
Quadro VI – Condições cromatográficas para a determinação dos ácidos gordos. ....	41
Quadro VII – Condições cromatográficas para a determinação dos triacilgliceróis.....	42
Quadro VIII – Condições cromatográficas utilizada na determinação do teor em (- )epicatequina e procianidinas. ....	46
Quadro IX - Resultados da caracterização físico-química geral das diferentes amostras. ....	48
Quadro X – Valores médios de acidez titulável, acidez volátil e pH nas amostras fermentadas. ....	51
Quadro XI – Valores extremos de acidez volátil e titulável para diferentes valores de pH. ...	51
Quadro XII – Ácidos gordos quantificados nas amostras.....	53
Quadro XIII – Triacilgliceróis presentes nas amostras.....	55
Quadro XIV – Compostos polifenólicos e teobromina nas diferentes amostras.....	56

## Lista de Figuras

Figura 1 – Fruto maduro de Cacau Amelonado Híbrido. ....	12
Figura 2 - Cacau Catongo .....	12
Figura 3 – Fruto maduro de Cacau Catongo. ....	13
Figura 4 – Interior do fruto de Cacau Catongo.....	13
Figura 5 – Esquema geral da Tecnologia Pós – Colheita. ....	15
Figura 6 – Esquema geral da produção da pasta de cacau e dos seus subprodutos. ....	23
Figura 7 – Esquema geral da tecnologia de fabrico do chocolate.....	29
Figura 8 – Secção transversal da cavidade nasal e bucal .....	34
Figura 9 – Distribuição das papilas e das áreas de especial sensibilidade para os sabores primários .....	34
Figura 10 – Teores de gordura das diferentes amostras, com e sem tratamento com HCl...50	
Figura 11 – Evolução do teor de fenóis totais pós-fermentação. ....	57
Figura 12 – Teores de (-)epicatequina e procianidinas nas amostras de Cacau Catongo e Amelonado.....	58
Figura 13 – Teores de teobromina nas amostras de cacau Catongo e Amelonado.....	59
Figura 14 – Bombons (A – Cacau Amelonado, B- Cacau Amelonado Híbrido, C- Cacau Catongo) .....	61

## **Lista de Abreviaturas**

CIAT-STP = Centro de Investigação Agronómica e Tecnológica de São Tomé e Príncipe

ECO – BIO = Centro de Ecofisiologia, Bioquímica e Biotecnologia Vegetal

IICT = Instituto de Investigação Científica Tropical

LET = Laboratório de Estudos Técnicos

ISA = Instituto Superior de Agronomia

QTL's = Quantitative trait loci

AOAC = American Organization of Agricultural Chemistry

IUPAC = International Union of Pure and Applied Chemistry

JOCE = Jornal Oficial das Comunidades Europeias

H.R. = Humidade Relativa

HPLC = High Performance Liquid Chromatography

HCl = Ácido Clorídrico

IRCC = Institut de Recherches du Café et du Cacao et autres Plantes Stimulants

SOS = Oleicodiesteárico

SOP = Oleicopalmíticoesteárico

POP = Oleicodipalmítico

SOO = Esteáricodioleico

OOP = Palmíticodioleico

OOO = Trioleico

SLO = Esteáricolinoleicoleico

SLP= Esteáricolinoleicopalmítico

PPP = Tripalmítico

MOP = Margáricoleicopalmítico

SLS = Linoleicodiesteárico

SPP = Esteáricodipalmítico

SOM = Esteáricoleicomargárico

AOO = Araquídicodioleico

SSP = Palmíticodiesteárico

BOP = Beénicoleicopalmítico

AOS =Araquídicoeicoesteárico

# 1.Introdução

São Tomé e Príncipe é um tradicional produtor de cacau, cuja qualidade é reconhecida internacionalmente. A sua produção baseia-se essencialmente em plantas designadas de “Amelonado de São Tomé”.

O país reúne, contudo, outro tipo de plantas, entre os quais o Catongo, introduzido em São Tomé e Príncipe há cerca de meio século.

Este cacau de origem brasileira, é considerado uma mutação do Forastero dado possuir frutos com as características deste tipo, excepto na coloração dos cotilédones das sementes que não apresentam a pigmentação antociânica característica do Forastero. Relativamente à qualidade do cacau comercial, são-lhe apontadas características semelhantes ao do cacau Criollo, embora este facto ainda não tenha sido cientificamente provado. A cuidada pesquisa bibliográfica realizada e os contactos estabelecidos com investigadores que actualmente trabalham com este material, evidenciou ser escassíssima a informação publicada sobre as características das sementes deste cacau.

No Brasil e noutras regiões do globo a produção deste tipo de cacau está condicionada pela existência da doença “Vassoura de bruxa” (*Crinipellis perniciosa*), à qual é altamente susceptível. A ausência desta doença em São Tomé e Príncipe poderá revelar-se um factor muito interessante para a cultura destas plantas no país.

Em São Tomé e Príncipe a produção desta população tem sido tratada juntamente com os frutos das plantas tradicionais, pelo que se desconhece o potencial deste cacau no país.

O objectivo deste trabalho é estudar sementes de cacau Catongo provenientes de São Tomé e Príncipe de modo a contribuir para o conhecimento das características físico-químicas e organolépticas mais relacionadas com a qualidade do cacau comercial e do chocolate com ele confeccionado. Estudaram-se sementes frescas e fermentadas de cacau Catongo, cujas características foram comparadas com sementes de cacau Amelonado de São Tomé e de cacau híbrido produzido no país.

Este trabalho foi realizado em estreita colaboração com o Centro de Investigação Agronómica e Tecnológica de São Tomé e Príncipe (CIAT-STP), que sugeriu o tema, forneceu as amostras e co-orientou o estudo científico.

Contou, igualmente, com a colaboração do Laboratório ECO-BIO, Instituto de Investigação Científica Tropical na determinação dos compostos fenólicos, dando sequência a trabalhos anteriormente realizados pela equipa de investigação. A análise sensorial e dos lípidos foi realizada no Laboratório de Estudos Técnicos/Instituto Superior de Agronomia,

## **2. Da planta ao chocolate**

### **2.1 Nota Histórica**

O cacau é um produto de enorme importância alimentar, e até social, que remontará há quase cinco mil anos.

Quando os colonizadores espanhóis chegaram à América, em 1519, o cacau era cultivado pelos indígenas de então, os Astecas e os Maias. Estes povos consumiam uma bebida preparada com cacau, farinha, mel, água e especiarias, que assumia importância e misticismo nestas civilizações. De acordo com os historiadores, o cacaueiro, designado de *cacahuatl*, era considerado sagrado. Esse significado religioso influenciou o botânico sueco Carolus Linneu (1707 – 1778), que chamou a planta de *Theobroma cacao*, isto é, “manjar dos deuses” (CEPLAC, 2008).

Na Europa as primeiras sementes de cacau surgiram pela mão de Cristóvão Colombo que as trouxe por curiosidade, sendo mais tarde utilizadas comercialmente por Don Cortes como uma nova bebida (Beckett, 1988). Esta bebida foi preferida pelos espanhóis quando adocicada, e sob esta forma espalhou-se a popularidade do cacau para a Europa do Norte e Centro (Beckett, 1988).

Sob o domínio espanhol, e a partir de 1520, expandiu-se para outros países. Os espanhóis passaram a monopolizar o comércio do cacau, devido ao segredo da preparação (Oetterer, 2006).

À medida que o cacau foi ganhando importância económica com a expansão do consumo de chocolate, várias tentativas foram feitas para a implantação do seu cultivo em outras regiões com condições climáticas semelhantes ao seu habitat natural. Como consequência as suas sementes foram se disseminando gradualmente a nível mundial. Em meados do século XVIII, o cacau chegou ao Sul da Baía, no Brasil, e, na segunda metade do século XIX, foi introduzido em África. As primeiras plantações africanas foram feitas por volta de 1822, na ilha de Príncipe (Ferrão, 2002).

A transição do chocolate como bebida para a tablete começou pela tentativa de encontrar uma bebida mais leve, dado que a original era rica em gordura e de difícil digestão.

Em 1828 Van Houten, desenvolveu uma prensa para extrair a gordura da semente (manteiga de cacau), adicionando assim uma dupla vantagem: a gordura prensada era utilizada na produção das tabletes de chocolate, enquanto que a torta resultante, com menor quantidade de gordura, é utilizada no fabrico de cacau em pó, mais facilmente miscível nas bebidas (Beckett, 1988). Com este mesmo objectivo, Van Houten inventou a alcalinização no cacau, normalmente ácido, detectando alterações não só a nível da miscibilidade do produto, como da cor e do *flavour*. Verificou, assim, que o “chocolate em pó” preparado com cacau alcalinizado era mais escuro, tinha um *flavour* mais suave e parecia ser mais rapidamente miscível em água quente (Cook, 1982).

A invenção do chocolate de leite deve-se a dois suíços: Henri Nestlé e Daniel Peter de Vevey. Henri Nestlé inventou o processo para produzir leite em pó por evaporação, facto aproveitado por Daniel Peter de Vevey, que o introduziu no fabrico do chocolate, produzindo o primeiro chocolate de leite, em 1876 (Minifie, 1989).

O chocolate tal como é hoje, deve-se também à intervenção de outros dois suíços, Rudolphe Lindt e Jean Tobler que inventaram respectivamente os processos de conchagem e temperagem (Minifie, 1989).

## **2.2. Planta**

### **2.2.1 Características edafo- climáticas**

A planta do cacau é originária das regiões selvagens da floresta tropical da América, desde o Perú até ao México. É uma árvore que se desenvolve em climas quentes e húmidos numa faixa geográfica compreendida entre os paralelos 20ºN e 20º S. Necessita de chuvas regulares, temperatura média de 25ºC e precipitação anual entre 1500 e 2000 mm. O solo deve ser profundo e fértil, sendo muito susceptível a pragas e fungos. Atinge entre 5 a 10 metros de altura, e os primeiros frutos são colhidos cerca de 5 anos após a plantação.

A cultura do cacaueiro pode existir, contudo, em zonas fora dos referidos limites de latitude e de altitude (> 600m), quando encontra regiões com microclimas de condições favoráveis (Arês, 1992).

### 2.2.2 Características botânicas

O cacauieiro é uma planta em que as inflorescências, e posteriores frutos, se desenvolvem directamente no caule em placas florais perenes (cochinetes), pertencente à família *Sterculaceae*. Os frutos são cápsulas ovóides com 10 a 30 cm de comprimento, que contêm 20 a 40 sementes ligadas à placenta e envoltas numa polpa mucilagínosa rica em açúcares. A produção das cápsulas não é sazonal, sendo possível encontrar simultaneamente na mesma planta frutos em diferentes estágios de maturação.

As sementes são constituídas por um pequeno gérmen e dois cotilédones, envolvidos pelo tegumento. Os cotilédones são a parte mais importante em termos de valor comercial, e são constituídos por dois tipos de células parenquimatosas de armazenamento: as células polifenólicas e as células lipoproteicas.

As células polifenólicas existem em número reduzido, são ocupadas quase na sua totalidade por um grande vacúolo cheio de substâncias polifenólicas e alcalóides (Almeida, 1990) e encontram-se dispersas entre as células lipoproteicas. Estas últimas são mais pequenas, mas constituem a maior parte do tecido.

A cor da semente, tamanho, forma e aspecto exterior depende da variedade a que a planta pertence (Wood, 1987), contribuindo estas características para a sua classificação.

### 2.2.3 Tipos de cacauieiro/ distinção dos tipos

A classificação utilizada actualmente, foi proposta por Cheesman em 1944, que dividiu o género *Theobroma* em três populações: Criollo, Forastero e Trinitário (Wood, 1987). Esta classificação baseia-se nas características do fruto e da semente (Quadro I).

Quadro I – Características das populações Criollo, Forastero e Trinitário.

	Criollo	Forastero	Trinitário
<b>“Casca do fruto”</b>			
<b>Textura</b>	Mole	Dura	Geralmente dura
<b>Cor</b>	Por vezes vermelho	Variável	Variável
<b>“Sementes”</b>			
<b>N.º médio /fruto</b>	20 - 30	30 ou mais	30 ou mais
<b>Cor dos cotilédones</b>	Branco, marfim ou violeta muito pálido	Violeta pálido a carregado	Variável, raramente ocorre sementes brancas

(Adaptado de Toxopeus (1987))



Os botânicos acreditam que o cacauero ter-se-á expandido pela América originando dois grupos importantes: Criollo e Forastero.

O Criollo, expandiu-se em direcção ao norte, para o rio Orenoco, provém de plantas mais susceptíveis a pragas e doenças, menos produtivas, calculando-se que a produção total de cacau criollo não ultrapasse os 5%.

O Forastero espalhou-se pela bacia amazónica e em direcção às Guianas, esta população é a que está mais difundida (Almeida 1990), visto que é mais resistente a pragas e doenças e é mais produtiva, sendo responsável por 90-95% da produção total de cacau. Inclui populações cultivadas, semi-selvagens e selvagens, das quais o cacau Amelonado é a mais amplamente plantada (Toxopeus, 1987).

O terceiro tipo, geralmente descrito como Trinitário contém muitas vezes na mesma baga sementes com cotilédones que variam de quase branco a violeta, este híbrido apresenta características intermédias das duas espécies que lhe deram origem (Criollo e Forastero), foi amplamente plantado em Trindade depois das plantações de Criollo terem sido devastadas no século XVIII (Hancock, 1988).

Existe ainda uma população em particular que é a mais relevante para este trabalho e que não possui características que o permitam classificar num só dos grupos do Quadro 1. Referimos - nos à população de **Cacau Catongo** - *Theobroma leiocarpa* (Lopez, 1986).

#### **2.2.4 Cacau Amelonado**

Este tipo de cacau constitui a grande maioria das árvores cultivadas na África Ocidental, onde é conhecido como “Amelonado da África Ocidental” (Fig.1). O nome dado à variedade foi atribuído devido à semelhança da sua forma com a dos melões. A cápsula é verde clara a amarela, com sulcos pouco pronunciados e o número médio de sementes por cápsula é cerca de 40 com coloração violeta escuro (Toxopeus, 1987), levando à sua integração na população Forastero.

Após a independência do Brasil, o Cacau Amelonado foi levado da Baía para São Tomé e Príncipe, onde se começou por estabelecer na ilha do Príncipe em 1822, donde se expandiu para Fernando Pó (actual Bioko), e depois para o continente africano, nomeadamente Costa do Marfim, Gana e Nigéria.

A partir da África Ocidental esta variedade foi introduzida na maioria dos restantes países Africanos, Sul de Ásia e Oceânia (Bartley, 2005).



Figura 1 – Fruto maduro de Cacau Amelonado Híbrido.

### 2.2.5 Cacau Catongo - *Theobroma leiocarpa*

O Cacau Catongo (*Theobroma leiocarpa*, Bernoulli) é considerado uma mutação albina do cacau Forastero. Este nome foi-lhe atribuído por ter sido identificado na fazenda Catongo na segunda metade dos anos 30 do século passado, na antiga localidade de Pirangi, Baía (Neto *et al.*, 2005). Foi identificado pelo brasileiro Sóstenes Miranda (Agrícola Cantagalo, Ltda, 2009).



Figura 2 - Cacau Catongo (Agrícola Cantagalo, Ltda, 2009)

Este tipo de cacau possui frutos branco-esverdeados quando imaturos e amarelos quando maduros, sendo que a casca é quase lisa (Neto *et al.*, 2005) (Fig. 3).



Figura 3 – Fruto maduro de Cacau Catongo.

A sua principal característica sob o ponto de vista morfológico, é a despigmentação dos cotilédones o que poderia levar a classificá-lo como Criollo. No entanto, dado que o número de sementes por fruto é superior a 30 e a casca é dura (Fig. 4), ele é geralmente integrado na população Forastero.



Figura 4 – Interior do fruto de Cacau Catongo.

Este tipo de cacau é muito utilizado em estudos genéticos, pois é altamente susceptível à doença “Vassoura de bruxa” (*Crinipellis perniciosa*) (Gramacho *et al.*, 1992) e apresenta resistência moderada à “Podridão parda” (*Phytophthora* spp.) (Medeiros, 1965).

Vários QTL's (Quantitative Trait Loci) são identificados para este tipo de cacau relacionados com o teor de gordura da semente, características sensoriais e moderada resistência à podridão parda (Bartley, 2005), (Crouzillat *et al.*, 2000).

Alguns especialistas consideram este tipo de cacau homozigótico. O gene inibidor de antocianinas presente neste tipo, torna as sementes e flores de Cacau Catongo despigmentadas (Bartley, 2005).

A presença deste gene é reconhecida pela ausência do pigmento antociânico em todos os órgãos deste genótipo, resultando no bloqueio da acção das enzimas responsáveis pela síntese de antocianinas. O alelo responsável pela mutação é recessivo e, por conseguinte, só detectável nos cotilédones e progenies dos indivíduos heterozigóticos cujos frutos são auto-fertilizados (Bartley, 2005).

## 2.3 Tecnologia Pós – Colheita

Para que o cacaueteiro possa ser utilizado na indústria alimentar necessita passar por várias etapas, desde a maturação do fruto até ao momento em que as sementes são exportadas como cacau comercial. Ao conjunto destas etapas chama-se tecnologia pós – colheita (Fig.5).

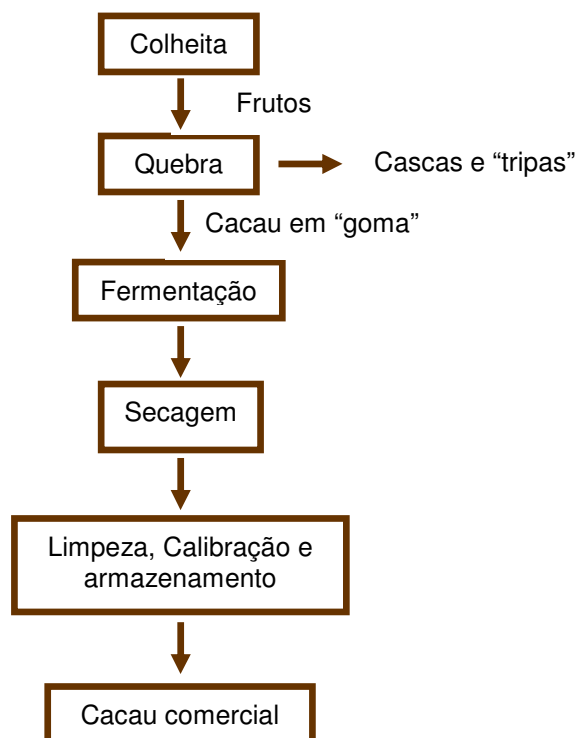


Figura 5 – Esquema geral da Tecnologia Pós – Colheita.

### 2.3.1 Colheita

Esta etapa é realizada manualmente, quando os frutos estão em perfeito estado de maturação, ou seja, a polpa está suficientemente liquefeita com maior teor de açúcares e as sementes se desprendem com facilidade.

Nos frutos imaturos o destaque da massa das sementes envolvidas pela polpa torna-se mais difícil, a quantidade de açúcar na polpa é menor afectando negativamente a fermentação, cujo decorrer depende do teor de açúcar existente na mesma. Por outro lado, os frutos excessivamente maduros além de serem mais susceptíveis a doenças e as sementes poderem germinar no seu interior, apresentam o inconveniente de terem a polpa liquefeita perdendo-se facilmente antes de se iniciar a fermentação (Almeida, 1990).

### 2.3.2 Quebra

Nesta operação são retiradas as cascas e as “tripas” obtendo-se o cacau em “goma”, pois a semente está envolta na polpa mucilaginosa.

Em algumas regiões (ex. São Tomé e Príncipe) as sementes imaturas, sobremaduras, atacadas por insectos ou fungos são separadas das restantes, pois estas contribuem para a diminuição da qualidade do cacau comercial. No entanto, estas podem ser fermentadas separadamente originando um cacau comercial de inferior qualidade.

Neste processo de tecnologia pós-colheita as etapas com maior relevância são a Fermentação e a Secagem.

### 2.3.3 Fermentação

Tem como objectivos principais a remoção da polpa mucilaginosa que envolve as sementes e a formação dos compostos precursores do *flavour* que se desenvolve durante a torra, devido a modificações químicas e bioquímicas que ocorrem nos cotilédones.

A polpa é composta aproximadamente por 85% de água, 11% de glucose e frutose, com menores quantidades de ácido cítrico, sacarose, pectina e aminoácidos. Durante o período da fermentação sofre alterações de pH (Minifie, 1989), as modificações são resultantes da actividade microbiana, que provoca a morte da semente.

Segundo Almeida (1990), existem vários factores que condicionam a fermentação e podem originar cacaos com características diferentes.

Esses factores são:

- ◆ População a que a planta pertence;
- ◆ Grau de maturação do fruto;
- ◆ Doenças do fruto;
- ◆ Relação massa polpa/ massa de semente;
- ◆ Diferenças climáticas;
- ◆ Intervalo de tempo entre a colheita e a quebra;
- ◆ Volume do lote, regime de remeximento (s) e arejamento;
- ◆ Duração da fermentação.

### 2.3.3.1 Fermentação Externa

Antes da abertura do fruto o seu conteúdo está estéril. A inoculação pode ocorrer pelas mãos dos trabalhadores, recipientes de transporte e através da mucilagem seca que se encontra aderente às caixas de fermentação.

Na fase inicial de fermentação (anaeróbica) a polpa encontra-se a valores de pH baixos (aproximadamente 4) e com elevados teores de açúcar. Nestas condições ocorre a proliferação de leveduras que vão degradar a sacarose existente na polpa, com formação de etanol. Os produtos de degradação da polpa são drenados da massa de fermentação na forma de exsudado, deixando ficar espaço entre as sementes por onde o ar circula. Pode ocorrer uma breve incidência de bactérias lácticas devido ao aumento da temperatura e pH, transformando o etanol em ácido láctico.

Com o arejamento da massa de fermentação, e após 48 horas de fermentação, as bactérias acéticas começam a dominar o meio e convertem o etanol em ácido acético. A reacção exotérmica, juntamente com a elevada concentração de ácido acético leva à morte da semente (Quesnel, 1965), tanto em termos fisiológicos (perda da capacidade de germinação), como em termos bioquímicos (em que a acção sinérgica do ácido acético e do etanol provoca a destruição celular que favorece a interacção enzimas/substratos). Este contacto enzima/substrato desencadeia reacções no interior dos cotilédones conduzindo à formação dos compostos precursores do *flavour*.

Até ao terceiro dia de fermentação a massa de sementes terá aproximadamente 45 – 50°C e manter-se-á nesta temperatura até que a fermentação seja concluída (Minifie, 1989).

A partir do quarto dia, destaca-se a actividade das bactérias esporuladas aeróbias, estas são responsáveis pela formação de compostos do *flavour*. No entanto, é-lhes, também, atribuída a produção de compostos que provocam acidez e de alguns *flavours* estranhos (Almeida, 1990).

### 2.3.3.2 Fermentação Interna

Após a morte da semente tem início a fermentação interna, durante a qual ocorrem alterações químicas ao nível dos cotilédones. A fermentação interna divide-se em duas fases: a fase hidrolítica anaeróbica e a fase de condensação oxidativa. Inicialmente a

semente está numa situação de anaerobiose, que vai mudando com as transformações no interior da semente causando a sobreposição destas duas fases.

Na fase hidrolítica ocorrem reacções de hidrólise de substâncias fenólicas, proteínas e sacarose (No Quadro II).

Quadro II - Caracterização das principais enzimas que actuam durante a fermentação.

Substrato	Enzima	Localização	Produtos	pH	T (°C)	Referência
<b>Proteínas</b>	Proteinases	Cotilédones	Aminoácidos e péptidos	4,7	55	Biehl <i>et al.</i> , 1977
<b>Glúcidos</b>	Invertases	Tegumento	Glucose e frutose	4 5,25	52 37	Lopez <i>et al.</i> , 1978
<b>Polifenóis (cianinas)</b>	$\beta$ -Galactosidases	Cotilédones	Cianidinas e açúcares	3,8-4,5	45	Forsyth e Quesnel, 1957
<b>Polifenóis (catequinas, procianidinas)</b>	Polifenoloxidasas	Cotilédones	Quinonas	5,5-6,0	40-50	Kim, 1988

(Adaptado de Lopez (1986))

Quando as condições mudam para aerobiose, as hidrolises são inibidas e as oxidases activadas. Inicia-se então a fase de condensação oxidativa que se prolonga até à operação seguinte (secagem), nesta fase a semente sofre alterações físicas ao nível da cor, redução de amargor e adstringência.

Os compostos fenólicos incolores, procianidinas e catequinas são oxidados pela polifenoloxidase que os converte em quinonas, desta acção resulta o acastanhamento da semente do exterior para o interior. Simultaneamente, verifica-se uma redução da adstringência das sementes, facto que estará ligado a um processo de insolubilização dos polifenóis que resulta das reacções onde intervém a quinona (Almeida, 1990).

As sementes de cacau Criollo são fermentadas por um período reduzido (que não excede 2 dias) (Ferrão, 2002) e no final têm uma coloração castanho claro a amarelo-torrado, devido ao facto dos cotilédones não conterem antocianinas. No cacau Forastero, a fermentação é mais demorada, podendo mesmo ultrapassar as 120 horas (Ferrão, 2002), as sementes



passam de violeta a castanho-escuro. Nos híbridos, o processo de fermentação é mais semelhante ao cacau Forastero por apresentarem sementes brancas e violetas.

### 2.3.3.3 Avaliação do grau de fermentação

A proporção de sementes defeituosas e o tipo de defeito pode ser determinado pelo “Cut Test”, o qual consiste em fazer um corte longitudinal e no exame de ambas as metades. Este teste envolve a observação da cor da superfície cortada que pode ser um indicador de como decorreu a fermentação.

Cook (1982) descreve do modo seguinte a relação entre a cor dos cotilédones do cacau comercial e as respectivas condições de fermentação:

- ◆ Sementes de cacau Forastero castanho avermelhadas a castanho-escuro e sementes de cacau Criollo castanho claro a amarelo-torrado, indicam que tanto a operação de fermentação como de secagem foram adequadas. Estas sementes desenvolvem o *flavour* típico a chocolate durante a torra.
- ◆ Quando as sementes de cacau Forastero se encontram violetas, indica que ocorreu a morte da semente, mas no entanto foram secas antes da acção enzimática. No cacau Criollo quando esta situação se verifica, as sementes apresentam cor amarelas esbranquiçadas. Após torra, estas sementes apresentam um ligeiro *flavour* a chocolate, predominando o “frutado” típico das sementes não fermentadas.
- ◆ Se a semente foi sujeita a secagem antes de ser fermentada ou houve libertação dos pigmentos antes da fermentação, as sementes de cacau Forastero apresentam-se com cor ardósia enquanto que as sementes de cacau Criollo apresentam cor amarelo acinzentado. Nestas sementes está ausente o *flavour* a chocolate, após torra.
- ◆ Ocasionalmente podem ocorrer problemas de excesso de fermentação e quando tal ocorre em vez do típico *flavour* a “frutado”, ocorre uma redução tão severa da adstringência que o sabor quase desaparece. O excesso de fermentação vai aumentar o pH das sementes, estas podem apodrecer e a cor das sementes tende a ser escura.

### **2.3.4 Secagem**

Tem como objectivos a redução da humidade da semente para valores que asseguram a boa conservação do produto durante o armazenamento e posterior transporte mas também a continuação da fase de condensação oxidativa da fermentação.

O teor máximo de humidade que assegura a boa conservação das sementes é 8%, embora sementes com valores superiores a 7,5% sejam consideradas um risco, dado que durante o armazenamento o teor de humidade tende em aumentar. Valores de humidade superiores a 8% favorecem o aparecimento de sementes contaminadas por fungos ou insectos, já valores inferiores a 6% implicam perdas de massa dado que as sementes tornam-se demasiado friáveis (Minifie, 1989).

O modo como se processa a secagem é um parâmetro importante, uma secagem ao sol (natural) apresenta como desvantagem as condições climáticas e o processo é mais moroso, aumentando a probabilidade da semente desenvolver fungos internos, no entanto, as sementes sofrem maior acastanhamento e são menos adstringentes pois estiveram sujeitas à acção da polifenoloxidase por mais tempo (Almeida, 1998).

No caso de a secagem ser artificial ser excessivamente rápida o que acontece quando é ultrapassada a temperatura de 65°C, dá-se a inibição das enzimas oxidases e, além disso, as sementes ficam mais ácidas, devido à retenção de quantidades excessivas de ácido acético no seu interior (Almeida, 1998).

Existem numerosos tipos de secadores, mas todos devem ter a mesma característica essencial, ou seja, que os produtos da combustão não entrem em contacto com a semente para não aparecer no produto final (Minifie, 1989).

### **2.3.5 Limpeza, Calibração e armazenamento**

A limpeza consiste na separação de impurezas (pedras, paus, bocados de cascas, sementes defeituosas, etc.) manualmente ou por acção de crivos, seguindo-se a calibração da matéria-prima.

No final deste processo tecnológico, obtém-se o Cacau Comercial. Cacau comercial é a designação portuguesa dada ao produto constituído por sementes de cacau que foram sujeitas a um conjunto de tratamentos tecnológicos, de que destacamos a fermentação e a secagem, anteriores à sua industrialização (NP 1656- 1980).

As instalações da fábrica onde se realizam estas operações devem estar devidamente isolada das restantes, para evitar contaminações microbianas e infestações de insectos nas sementes de cacau. (Arês, 1992).

Depois de calibradas são armazenadas até que se transportam para a unidade industrial. O embalamento deve ser feito em sacos novos, limpos, resistentes, forrados com materiais inócuos e inertes em relação ao conteúdo, e selados indicando o país produtor, o nome do produto e a categoria do cacau comercial (NP – 1656, 1980).

## **2.4. Qualidade do cacau comercial**

A qualidade das sementes de cacau depende de vários factores, o tipo de planta, os cuidados culturais, a fermentação, a secagem e o armazenamento.

Para a indústria, a qualidade do cacau comercial pode ser avaliada por diferentes parâmetros destacando-se: o teor de humidade, o teor de gordura, a acidez, a massa das sementes, o teor em casca, o aspecto sanitário, o potencial de *flavour* e a uniformidade da semente.

Como já foi referido, o teor de humidade máximo que assegura a boa conservação das sementes é de 8%, pois para valores superiores favorece-se o aparecimento de sementes contaminadas por fungos e insectos provocando alterações a nível do *flavour* e gordura.

A percentagem de gordura (manteiga de cacau) é um dos parâmetros mais importantes para a indústria, determinando o rendimento e, consequentemente, o seu valor comercial, tanto mais porque a manteiga de cacau é o constituinte da semente mais valorizado. O cacau da África Ocidental contém normalmente 56 – 58% de gordura na semente seca (Santos, 1988).

A acidez é também um parâmetro muito importante na qualidade da semente, pois uma quantidade excessiva terá um efeito adverso sobre o sabor do produto acabado. Os ácidos acético e láctico formados durante a fermentação difundem-se nos cotilédones e estão presentes em diferentes quantidades dependendo da origem da semente (Wood, 1987). O ácido cítrico presente nas sementes frescas em 1-2% é reduzido durante a fermentação e

secagem, permanecendo cerca de 0,5% nas sementes (Wood, 1987).

A massa das sementes é um parâmetro que depende das características genéticas da planta, das condições de cultura e consequente do desenvolvimento do fruto. O peso médio de cada semente segundo Wood (1987) situa-se entre 1,0 - 1,2g. Estes valores são equivalentes a 100g para aproximadamente 100 sementes, é desta forma que o mercado do cacau verifica o peso actual.

Durante o processo industrial a casca é removida constituindo um subproduto com pouco valor, pelo que o teor de casca deve ser o mais baixo possível, mas suficiente para garantir a protecção da semente contra o ataque dos insectos e fungos. Os valores mínimos aceites para a percentagem de casca andam à volta de 11% (Wood, 1987).

Quanto ao aspecto sanitário, as sementes devem-se apresentar isentas de materiais estranhos, bolores e insectos, não devendo estar germinadas, murchas ou danificadas.

O *flavour* a cacau vai depender do processo tecnológico adoptado e do tipo de planta. A tecnologia adoptada e as condições de torra são importantes para desenvolver os precursores do *flavour*.

## 2.5. Produção de pasta de cacau

A selecção criteriosa das matérias-primas, o rigor e a tecnologia utilizadas no processo de fabrico, são a chave para a obtenção de uma pasta de cacau de qualidade. A figura 6 representa o método clássico de produção de pasta de cacau no qual se faz a torra de sementes inteiras. Actualmente existem outros métodos nos quais se procede à torra do granulado ou da pasta de cacau.

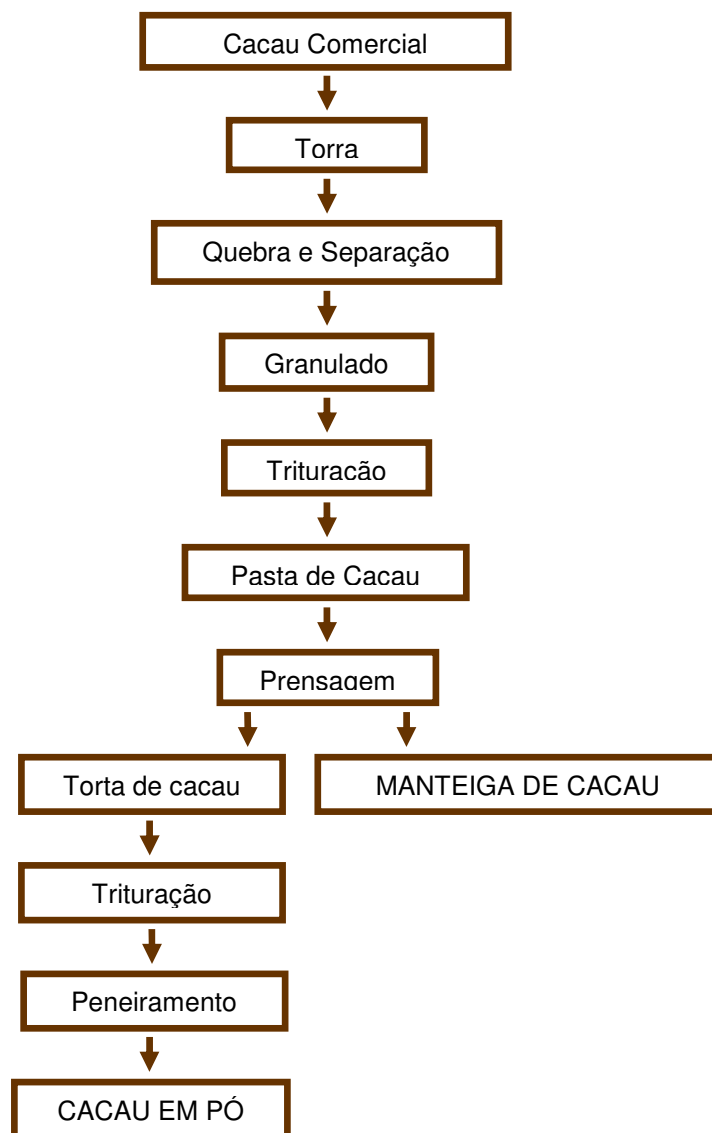


Figura 6 – Esquema geral da produção da pasta de cacau e dos seus subprodutos.

### 2.5.1 Torra

A industrialização do cacau comercial inicia-se com a operação de torra. Nesta operação desenvolve-se o *flavour* a cacau, a partir dos precursores formados durante a fermentação, reduz-se o teor de humidade e ácido acético e a casca fica solta, facilitando a sua remoção (Minifie, 1989). Além disso, ocorre a higienização das sementes, devido à destruição dos microrganismos pelas elevadas temperaturas, facto que é favorecido pela posterior separação da “casca”.

Durante a torra, as sementes perdem cerca de 6% água, ficando, no final, com cerca de 2,5% de humidade (Oetterer, 2006).

A duração e a temperatura de torra dependem das características do cacau comercial, do tipo de torrador e do produto que se pretende obter (Almeida, 1998). Num torrador clássico, a temperatura pode variar entre os 100°C e os 200°C e a duração entre os 20 e os 40 minutos, ao fim dos quais as sementes são arrefecidas por ventilação para interromper as reacções térmicas e conservar o aroma.

Este processo ocorre mediante duas fases. Na primeira ocorre a desidratação da semente e na segunda ocorrem reacções de Maillard (acastanhamento enzimático), que levam ao desenvolvimento de grande parte dos compostos do *flavour*.

### 2.5.2 Quebra e separação

Nesta operação procede-se à quebra dos cotilédones, por acção de moinhos de rolos, e à separação da casca e do gérmen, uma vez que a casca e o gérmen apresentam características muito diferentes dos cotilédones.

As principais objecções à presença do gérmen, devem-se ao facto de este ser duro, amargo e possuir uma gordura com características diferentes da manteiga de cacau dos cotilédones (Cook, 1982).

Segundo Minifie (1989) uma semente de cacau com 6,5% de humidade apresenta 87,1% de cotilédones, 12,0% de casca e 0,9% de gérmen.

### 2.5.3 Trituração

O granulado, obtido na operação anterior, é sujeito a trituração, o que provoca a ruptura das células dos cotilédones, e a consequente libertação da gordura neles existente – manteiga de cacau, bem como a redução das dimensões das partículas dos restantes constituintes (Minifie, 1989).

O calor que se gera durante esta etapa leva à fusão da manteiga de cacau, produzindo uma mistura semi-líquida que, após arrefecimento, solidifica dando origem à **Pasta de Cacau**.

A pasta de cacau pode sofrer uma série de transformações dando origem à manteiga de cacau, ao cacau em pó, e ao chocolate.

## 2.6. Manteiga de cacau

A manteiga de cacau é a gordura natural do cacau que possui um *flavour* específico. Para além da sua grande e variada utilização na indústria alimentar é também usada na indústria farmacêutica e cosmética.

### 2.6.1. Composição química

De acordo com Martin (1987) a manteiga de cacau é composta principalmente por triacilgliceróis (93%) contendo, ainda, pequenas quantidades de diacilgliceróis (4%), monoacilgliceróis (< 0,5%) e ácidos gordos livres (1,3%).

Os ácidos gordos dominantes na manteiga de cacau são o ácido esteárico, o ácido oleico e o ácido palmítico os quais correspondem a aproximadamente 90% do total dos ácidos gordos presentes na manteiga de cacau, seguindo-se o ácido linoleico e o ácido araquídico (Quadro III) (Rebelo, 2002).

Quadro III – Composição da manteiga de cacau em ácidos gordos.

Ácido Gordo	N.º de Carbonos: duplas ligações	%
<b>Laúrico</b>	12:0	0 – 0,1
<b>Mirístico</b>	14:0	0,1 – 0,2
<b>Palmítico</b>	16:0	<b>24,5 – 27,8</b>
<b>Palmitoleico</b>	16:1	0,2 – 0,4
<b>Esteárico</b>	18:0	<b>32,1 – 35,6</b>
<b>Oleico</b>	18:1	<b>32,2 – 38,6</b>
<b>Linoleico</b>	18:2	2,6 – 4,0
<b>Linolénico</b>	18:3	0,1 – 0,2
<b>Araquídico</b>	20:0	0,5 – 1,1

(Adaptado de Rebelo (2002))

A estrutura dos ácidos gordos, a sua distribuição nos triacilgliceróis (quadro IV) e a proporção dos mesmos, dá origem às características particulares da manteiga de cacau.

Quadro IV – Composição da manteiga de cacau em triacilgliceróis.

Triacilgliceróis	Fracções
<b>Trisaturados</b>	3%
<b>Monoinsaturados</b>	
<b>Oleicodiesteárico (SOS)*</b>	<b>25%</b>
<b>Oleicopalmíticoesteárico (SOP)*</b>	<b>37%</b>
<b>Oleicodipalmítico (POP)*</b>	<b>14%</b>
<b>Diinsaturados</b>	
<b>Estearicodioleico (SOO)*</b>	6%
<b>Palmíticodioleico (OOP)*</b>	7%
<b>Poliinsaturados</b>	
<b>Trioleico (OOO)*</b>	1%

(Adaptado de Rebelo (2002)) \*Siglas em inglês

Destacam-se os triacilgliceróis monoinsaturados, o oleicopalmíticoesteárico, o oleicodiesteárico e o oleicodipalmítico, os quais correspondem a aproximadamente 80% do total de triacilgliceróis.



### 2.6.2 Extracção da manteiga de cacau

A extracção da manteiga de cacau pode ser efectuada por prensagem (espressão), por solventes, ou por extrusão (expeller), originando dois produtos, a manteiga de cacau e a torta de cacau. No entanto, nestes dois últimos casos as tortas obtidas não podem ser utilizadas na alimentação humana e a manteiga de cacau é de pior qualidade do que a resultante da prensagem “por expressão” (Minifie, 1989).

Quando obtida por prensagem do cacau, a manteiga de cacau apresenta cor amarela, derretendo completamente a cerca de 35°C com uma incipiente fusão ou amolecimento em torno de 30 - 32 ° C (Minifie, 1989).

### 2.6.3 Cristalização e polimorfismo

A manteiga de cacau dependendo da temperatura de arrefecimento, pode cristalizar sob diferentes formas polimórficas.

Apresenta-se sob quatro formas polimórficas, consoante o ponto de fusão (Rebelo, 2002):

Forma  $\gamma$  - Produzida pelo rápido arrefecimento da gordura. O seu ponto de fusão é de aproximadamente 17° C, sendo muito instável, transforma-se rapidamente na forma  $\alpha$ .

◆ Forma  $\alpha$  - Forma-se rapidamente, mesmo a temperaturas baixas, por transformação da forma  $\gamma$ . O seu ponto de fusão é de 21-24° C, apesar de ser mais estável transforma - se na forma  $\beta'$ , quando a temperatura for diferente do seu ponto de fusão.

◆ Forma  $\beta'$  - Resulta da transformação da forma  $\alpha$ , o seu ponto de fusão é de 27-29° C, ocorrendo uma transição gradual para a forma estável.

◆ Forma  $\beta$  - O seu ponto de fusão é de 34-35 ° C (forma estável), proporcionando uma melhor contracção.

#### 2.6.4 *Fat Bloom*

O “bloom” da gordura, o qual é identificado pela película esbranquiçada que se forma na superfície do chocolate, é prejudicial para a aparência (perda de brilho), textura e tempo de prateleira, afectando deste modo a qualidade do chocolate aos olhos do consumidor.

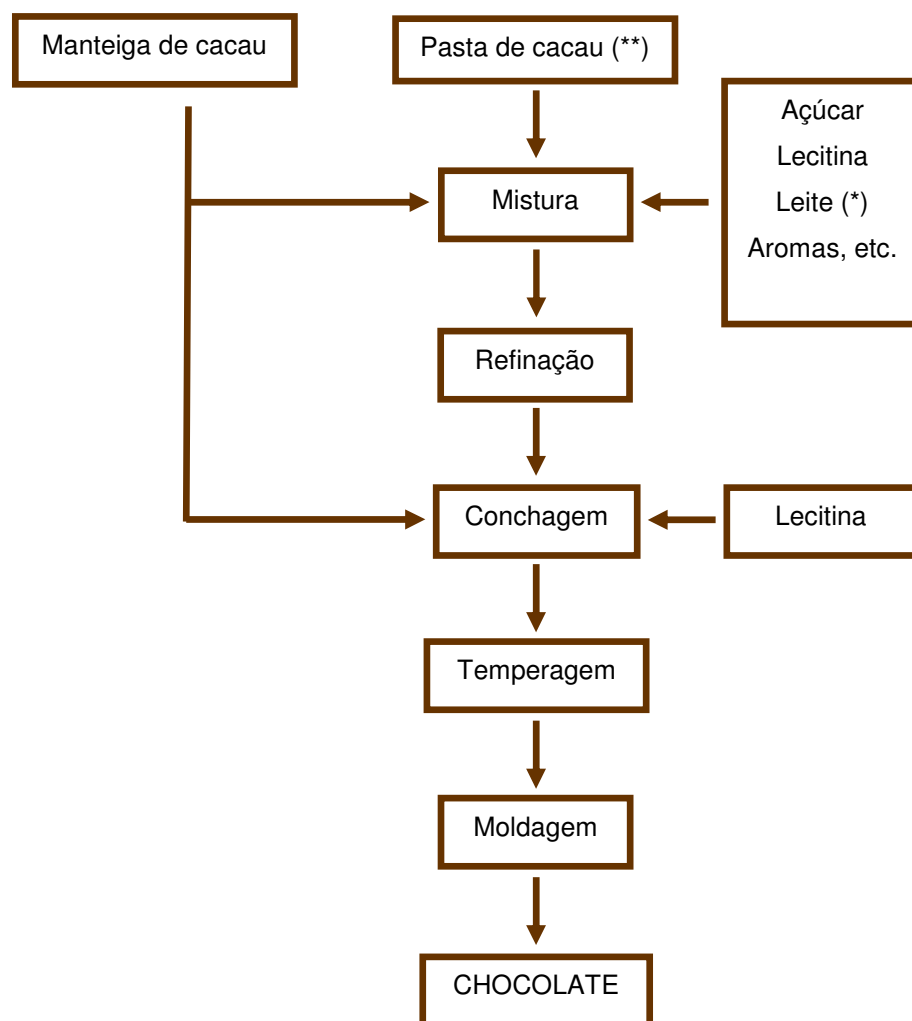
No chocolate pode-se distinguir dois tipos de “bloom”, o “fat- bloom” e o “sugar-bloom” (Minifie, 1989). O “bloom” do açúcar surge quando a água entra em contacto com o chocolate. Iremos apenas nos referir ao “fat- bloom” devido à manteiga de cacau.

O *fat-bloom* está relacionado com o comportamento polimórfico dos triacilgliceróis, e segundo Minifie (1989) é causado por:

- ◆ Má temperagem do chocolate;
- ◆ Incorrecto arrefecimento;
- ◆ Armazenamento a temperaturas inadequadas;
- ◆ Adição de gorduras incompatíveis com a manteiga de cacau.

## 2.7. Produção de chocolate

A tecnologia de fabrico do chocolate (Fig. 7) envolve vários processos de natureza físico-química, como a incorporação de outros ingredientes não provenientes do cacau comercial, o desenvolvimento do *flavour* e a obtenção de textura, cor e brilho, agradáveis aos sentidos do consumidor.



(\*) chocolate de leite e branco; (\*\*) ausente no chocolate branco

Figura 7 – Esquema geral da tecnologia de fabrico do chocolate.

### 2.7.1 Mistura

Para a produção de chocolate utiliza-se principalmente a pasta de cacau, a manteiga de cacau, o açúcar e a lecitina ou outro emulsionante. A capacidade da lecitina reduzir a tensão interfacial entre a manteiga de cacau (ou outras gorduras) e os restantes constituintes do

chocolate traz benefícios adicionais, poupando-se na quantidade de manteiga de cacau utilizada.

### **2.7.2 Refinação**

Esta operação tem como objectivo principal a redução das partículas da massa de chocolate. O chocolate é sujeito à acção de forças de cisalhamento, abrasivas e de atrito, num refinador constituído por 3 a 5 rolos.

O refinador actua igualmente como dispersor, na medida em que os aglomerados são “polidos” e as partículas “molhadas” com a gordura líquida (Minifie, 1989). Ocorre, também, desenvolvimento de *flavour*, e alterações a nível de cor (Almeida, 2005).

### **2.7.3 Conchagem**

A finalidade desta operação é a definição do *flavour* final do chocolate e o melhoramento da textura do chocolate. Ocorre, também, a libertação dos compostos voláteis indesejáveis, como o ácido acético produzido durante a fermentação.

Nesta operação a mistura é mexida durante muitas horas e até dias, consoante o aperfeiçoamento do equipamento e os produtos que se estão a preparar (Ferrão, 2002), a temperatura situa-se entre 45 e 100°C dependente do tipo de chocolate e a restante manteiga de cacau e lecitina são adicionadas.

A manteiga de cacau desempenha um papel fundamental nesta fase, pois contribui para o melhoramento da textura que, ao envolver as partículas do chocolate, o tornam mais macio e fluído. A lecitina por sua vez, ao criar pontes de hidrogénio entre os constituintes do chocolate e a manteiga de cacau, reduz as tensões na massa de chocolate formando um sistema mais estável, o que confere ao chocolate boas condições de fluidez (Minifie, 1989). O tempo de conchagem está dependente da temperatura a que é efectuada, isto é, quanto mais elevada for a temperatura mais rapidamente se atinge o grau de fluidez adequado.

O equipamento utilizado nesta operação são as “conchas”, horizontais ou rotativas. Nas rotativas, a pasta é vigorosamente virada e revirada por meio de pás, enquanto nas horizontais, a conchagem faz-se através de um movimento de vaivém de um cilindro sobre a pasta de chocolate (Minifie, 1989).

Durante a conchagem, a viscosidade da pasta vai diminuindo tornando-se mais fluida. Esta diminuição deve-se à perda de água durante o processo, à quebra dos aglomerados e à adição da manteiga de cacau, que diminui a tensão interfacial entre as partículas e a mesma.

#### **2.7.4 Temperagem**

Na temperagem o chocolate é submetido a uma gama de temperaturas, de modo a obter cristais da manteiga de cacau na sua forma estável (forma  $\beta$ ), para que o chocolate tenha brilho e textura característica.

O processo térmico de temperagem envolve dois estágios térmicos. Numa primeira fase, o chocolate fundido sofre um arrefecimento de 46-49°C para cerca de 26-29°C, no caso do chocolate negro. A esta temperatura o chocolate já deve ter suficientes cristais de manteiga de cacau na forma estável, que asseguram a sua presença após o arrefecimento. Numa segunda fase, o chocolate é aquecido para temperaturas de 32-33°C, respectivamente para o chocolate negro. Este aumento de temperatura tem dois objectivos: não só os cristais se vão formando, mas também assegurar que qualquer forma instável seja derretida (Minifie, 1989).

O equipamento utilizado neste processo é um conjunto de tanques cilíndricos providos de uma pá, que ao movimentar-se coloca a pasta líquida em contacto com a superfície arrefecida do tanque.

#### **2.7.5 Moldagem**

A moldagem pode ser feita em formas de alumínio, plástico e até de amido, com variadíssimas formas e feitios. O chocolate é colocado nas formas, sofrendo uma acção de vibração que assegura a distribuição uniforme do chocolate e a remoção das bolhas de ar. A solidificação faz-se por arrefecimento cerca de 10°C (Ferrão, 2002).

A moldagem deve ser precedida imediatamente pela temperagem que, para além de ter os efeitos já referidos, promove a contracção da massa durante o arrefecimento, facilitando a sua posterior separação do molde.

Se o chocolate perfeitamente temperado for colocado nos moldes a uma temperatura indesejável, perde-se o efeito de pré-cristalização formam-se manchas e cristais instáveis à superfície. Se pelo contrário, o molde está muito quente, parte dos cristais da manteiga de

cacau formados durante a temperagem podem derreter dificultando a desmoldagem (Rosa, 2001).

Após arrefecimento, o chocolate é desmoldado, através de uma inversão enérgica. Se a temperagem tiver sido realizada adequadamente as peças saem do molde sem qualquer problema.

#### **2.7.6 Embalamento**

O embalamento deve ser realizado à temperatura de 28°C. Se esta temperatura não for respeitada formam-se cristais instáveis e o chocolate apresenta manchas brancas e fica baço.

As peças de chocolate são embrulhadas em folha de alumínio, este “papel” é considerado como a melhor barreira ao vapor de água e à transmissão de oxigénio (Martin e Ferguson, 1988).

#### **2.7.7 Armazenamento**

No armazenamento, os produtos devem permanecer em locais arejados e sem odores “estranhos”. A temperatura e a humidade relativa (máxima de 70%) deve respeitar os valores de embalamento. Não devem estar em contacto com o chão, ou paredes e também não devem estar sob a acção directa do sol. Evidentemente, devem ser tomadas medidas para impedir a infestação por insectos e roedores.

### **3. Análise Sensorial. Alguns Conceitos**

A análise sensorial é uma disciplina científica através da qual se mede, analisa e interpreta reacções características dos alimentos e como estas são percebidas pelos sentidos: visão, audição, olfacto, tacto e paladar.

Na indústria alimentar a análise sensorial é de grande relevância para avaliar, quer de forma empírica quer numa base científica, a aceitação do produto pelo mercado e a sua qualidade. A sistematização das técnicas de análise sensorial tem evoluído e o seu campo de aplicação no sector alimentar alargou - se a vários níveis, tais como: comercial; industrial; e investigação.

No contexto sensorial, a aceitabilidade do produto pode ser “medida” através de vários indicadores, tais como: quanto o consumidor gosta ou desgosta de um produto, porque prefere esse produto a outro e de como as diferentes propriedades sensoriais do produto influenciam a sua aprovação ou reprovação por parte do consumidor.

Esta análise é realizada por uma equipa de provadores, treinados ou não, que analisam as características organolépticas do produto. Para alcançar o objectivo específico de cada análise, seguem-se diferentes métodos de avaliação, que conduzem à obtenção de respostas mais adequadas ao perfil do produto. O resultado é expresso de forma específica conforme o teste aplicado, sendo tratado estatisticamente para assim se concluir a viabilidade do produto.

Devido aos instrumentos utilizados neste tipo de análise, há que atender às limitações fisiológicas da equipa de provadores e a sua impossibilidade de comparar muitas amostras numa mesma sessão de análise (Chiappini *et al.*, 2005).

### **3.1 Atributos sensoriais**

Os cinco sentidos (visão, audição, tacto, olfacto e paladar) são essenciais para detectar os vários atributos presentes nos alimentos, como o cheiro, o aroma, o sabor, a aparência, a textura e a adstringência.

#### **3.1.1 Cheiro e Aroma**

O processo do olfactação consiste em detectar as moléculas voláteis que são transportadas numa corrente de ar até à cavidade nasal para as áreas receptoras de sensibilidade localizadas nas pregas do tecido mucoso (Heath, 1981).

Segundo este autor, existem quatro aspectos fundamentais que caracterizam o olfacto:

- ◆ O nariz, altamente sensível para detectar moléculas de difícil percepção;
- ◆ A percepção, bastante rápida e versátil;
- ◆ Específico para cada cheiro/aroma e pode ser treinado;
- ◆ Dependendo do cheiro/aroma pode induzir respostas psicológicas.

A entrada das substâncias voláteis para a cavidade nasal pode ocorrer directamente pelo nariz (cheiro ou odor), ou indirectamente pela via retronasal (aroma). Os voláteis são depois

sentidos no epitélio olfactivo, que está localizado na parte superior da cavidade nasal (Fig. 8).

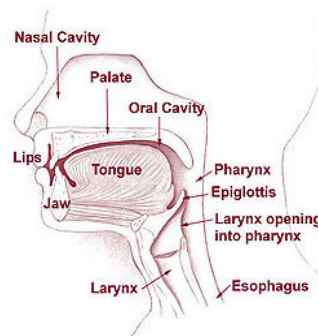


Figura 8 – Secção transversal da cavidade nasal e bucal ([http:// en.wikipedia. org/wiki/Nasal\\_cavity](http://en.wikipedia.org/wiki/Nasal_cavity))

### 3.1.2 Sabor

O sabor é detectado pelo contacto de alguns componentes solúveis com as papilas gustativas da língua. Tradicionalmente é aceite que existem quatro sabores primários – doce, ácido, salgado e amargo; da sua combinação resultam centenas de sabores distintos (Moncrieff, 1967).

Estes quatro sabores primários estão distribuídos em diferentes locais na língua. O sabor doce é reconhecido principalmente na ponta da língua, o sabor ácido e salgado são reconhecidos pelos lados da língua e o sabor amargo é detectado na retaguarda da língua (Fig. 9).

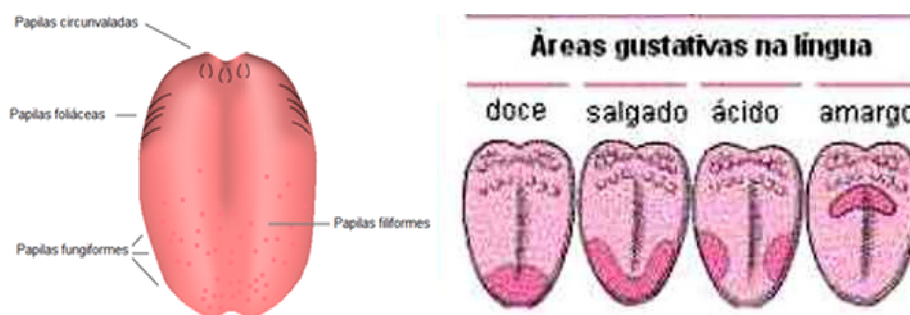


Figura 9 – Distribuição das papilas e das áreas de especial sensibilidade para os sabores primários (<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/6/6f/Tongue-pt.png/250px-Tongue-pt.png> e <http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/corpo- humano-sistema-sensorial/gustacao-paladar.php>)



### **3.1.3 Aparência**

O sentido visual é geralmente equiparado às cores. A sua percepção promove a identificação dos atributos da aparência, que podem influenciar a escolha do alimento como o tamanho, a forma, o brilho e a cor.

### **3.1.4 Textura**

A textura resulta da combinação das propriedades físicas percebidas pelos sentidos do tacto, visão e audição. As propriedades físicas podem incluir o tamanho, a forma, o número e a natureza dos elementos constituintes (Brennan, 1988).

A estimulação do tacto pode ocorrer pela manipulação dos alimentos, directa ou indirectamente através do uso de utensílios (ex: faca, colher, etc.). O contacto oral com os alimentos ocorre via lábios, língua, palato e dentes e todos estes promovem a informação textural.

### **3.1.5 Flavour**

A apreciação do *flavour* é universal e resulta da combinação das propriedades dos alimentos, é a resposta a uma mistura complexa dos estímulos primários dos sentidos do olfacto e sabor mas também aos associados com a visão (cor e aparência), sensações tácteis (textura e sensação na boca) e pungência (Moncrieff, 1967). A definição apresentada pelo prNP 4263 (1994), define *flavour* como o conjunto das sensações olfactivas, gustativas ou trigemiais perceptíveis durante a degustação. Sensações trigemiais são sensações irritantes ou agressivas percebidas na cavidade bucal (Almeida, 1998).

## **3.2 Tipos de testes sensoriais**

Os métodos de análise sensorial podem ser divididos em quatro grandes categorias: o método analítico e discriminativo, o método descritivo, o método de preferência/ aceitação e o método de sensibilidade.

### **3.2.1 Método Analítico e Discriminativo**

Este tipo de método é utilizado de dois modos: para determinar se existem diferenças entre amostras, ou para determinar se uma dada amostra tem mais ou menos um atributo

específico que outra. Normalmente é realizado por um pequeno painel de provadores, sem a necessidade de experiência. No entanto, existem limitações inerentes a este tipo de testes, como, por exemplo, a restrita informação fornecida e a dificuldade em determinar se há diferença entre amostras.

O teste triangular de diferenças é o mais conhecido e usado, mas o número de provadores é limitante (15 provadores ou mais). Os membros do painel são postos diante três amostras ao mesmo tempo, sendo que duas são idênticas e uma difere. Aos provadores é pedido para provarem cada uma das amostras e identificar a que é diferente.

Os aspectos qualitativos do produto nos quais se incluem a aparência, o aroma, o gosto, o *flavour* e a textura, vão definir, em conjunto, o produto e consequentemente diferenciá-lo dos demais.

### **3.2.2 Método Descritivo**

Este tipo de método é usado para quantificar a intensidade dos atributos ou alguma diferença entre amostras. É uma combinação de avaliação quantitativa e qualitativa sendo aplicada a uma ou mais amostras.

A intensidade dos atributos é geralmente esclarecida pela discussão após teste (Heath, 1981). Alguns destes testes são utilizados em testes de preferência. Quando o tamanho do painel é adequado, os resultados são passíveis de serem avaliados estatisticamente.

### **3.2.3 Método de Preferência/ Aceitação**

O objectivo deste teste é avaliar a preferência/aceitação entre amostras. A resposta é hedónica e reflecte as sensações provocadas no provador pelo produto, sob as condições de teste. Este teste não deve, preferencialmente, incluir treino, dado que distorcer as sensações, tornando-as não representativas da maioria do alvo que são os consumidores comuns.

### **3.2.4 Método de Sensibilidade**

O objectivo deste teste é determinar os limiares de detecção de determinados atributos, baseado na sensibilidade dos indivíduos, ao estímulo provocado pelo alimento.

### **3.3 Condições gerais para a análise sensorial**

Para a realização da prova sensorial, é necessário garantir que as condições em que se realiza garantam a correcta execução da análise sensorial, não prejudicando os resultados. Vários factores são importantes como o ambiente de preparação das amostras, o ambiente de realização do teste e próprio design da cabine de prova.

#### **3.3.1 Ambiente de preparação das amostras**

A área de preparação das amostras deve ser adjacente à área de teste mas separada para prevenir o acesso dos provadores, para que não possa causar influência psicológica. A ventilação deve ser adequada para limpar quaisquer odores resultantes da preparação das amostras e o equipamento e materiais utilizados devem estar limpos e isento de odores.

Apenas devem ser dadas as informações sobre o produto e o procedimento a seguir necessárias à realização do teste. Pelo mesmo motivo, não devem participar no teste pessoas envolvidas no desenvolvimento da pesquisa.

Quando possível as amostras devem ser apresentadas de forma homogénea, com aparência e temperatura uniforme, em quantidades iguais e recipientes iguais, para não conduzir a um julgamento tendencioso da amostra.

#### **3.3.2 Ambiente de teste**

A área de realização de teste deve ser de fácil acesso e longe de qualquer ruído que promova a desconcentração na realização do teste. A temperatura da sala deve ser confortável para os provadores, aproximadamente 22°C, e a humidade relativa deve estar preferencialmente entre 45 e 50 % (Kilcast, 1999). O ambiente de prova deve ter uma correcta circulação de ar de modo a que não haja cheiros estranhos a influenciar a análise.

As cabines de prova devem ser individuais para não interferir no julgamento e para evitar distrações. O espaço da cabine deve ser suficiente para manusear as amostras, os copos, os alimentos limpadores de palato, a folha de prova e a caneta.

## **4. Parte Experimental**

### **4.1 Introdução**

As sementes de cacau comercial têm que reunir determinadas características de qualidade para serem aceites a nível do mercado, e, após industrialização, os produtos a que dão origem satisfazerem as exigências do consumidor. O trabalho teve como objectivo avaliar as principais características de qualidade do cacau Catongo em termos de composição físico-química e sensorial.

O estudo analítico foi realizado no Laboratório de Tecnologia dos Produtos Tropicais, Secção de Agronomia Tropical, do Instituto Superior de Agronomia. Contou igualmente, com a colaboração do Laboratório de Estudos Técnicos (LET) /ISA para a realização da análise sensorial e dos lipídios, e com o laboratório ECO-BIO/IICT na determinação dos compostos fenólicos.

### **4.2 Material**

O estudo efectuado ao longo deste trabalho teve como base amostras de sementes, fermentadas e não fermentadas, de Cacau Catongo, Cacau Amelonado e Cacau Amelonado Híbrido provenientes de São Tomé e Príncipe (Quadro V e figuras 1, 3 e 4).

O processo de fermentação, realizada no CIAT/STP, foi semelhante para todas as amostras, ocorrendo em três caixas de madeira durante 6 dias. O remeximento foi feito de 2 em 2 dias ao mesmo tempo que se transferia a massa de sementes para a caixa mais abaixo, as sementes foram sujeitas a secagem natural, durante 4 a 15 dias, consoante a H. R. do ar.

As amostras não fermentadas foram extraídas de frutos transportados por via aérea. Os frutos foram mantidos a temperaturas baixas num frigorífico até à sua abertura para que não ocorressem alterações. Depois de abertos, com o auxílio de uma faca, retirou-se as sementes do seu interior e separou-se as “tripas”. As sementes foram imediatamente arrefecidas à temperatura de -40°C e liofilizadas num liofilizador TELAB - JDF durante 48h, permitindo a conservação das amostras por completa remoção da água livre. As sementes liofilizadas foram guardadas num exsiccador, aguardando a sua manipulação para as determinações.

Quadro V - Amostras de cacau.

	Cacau Catongo		Cacau Amelonado	Cacau Amelonado Híbrido	
	Não Fermentadas	Fermentadas	Fermentadas	Não Fermentadas	Fermentadas
<b>Duração da Fermentação</b>	—	6 dias	6 dias	—	6 dias
<b>Duração da Secagem (solar)</b>	—	4 a 15 dias	4 a 15 dias	—	4 a 15 dias

## 4.3 Métodos

### 4.3.1 Massa de 100 sementes

Para esta determinação pesa-se 100 sementes de cacau comercial e anota-se a sua massa.

### 4.3.2 Determinação da perda de massa por secagem (humidade)

Esta determinação baseia-se na diferença de massas resultante do aquecimento a 100°C de uma massa conhecida de sementes de cacau (4 a 5g) previamente descascadas e moídas, durante cerca de 6h, de modo a garantir a estabilização da massa da toma. É uma determinação em que se assume que a perda de massa durante a secagem se deve única e exclusivamente à evaporação de água. As condições de secagem foram seguidas conforme o método descrito em AOAC (1978).

### 4.3.3 Determinação do teor de gordura (extracto etéreo)

Esta determinação foi realizada segundo a NP- 1719 (1981). De acordo com este método, a toma (5g de sementes), descascada e moída em almofariz, é submetida a um tratamento prévio com ácido clorídrico (25%) para destruir os glóbulos de gordura. Seguidamente procede-se à sua secagem e extracção da gordura pelo éter de petróleo (p.e 40-60°C), durante cerca de 40 horas, no aparelho Soxhlet. Por fim, evapora-se o solvente e efectua-se a pesagem da gordura contida no balão, previamente tarado.

#### **4.3.4 Determinação dos ácidos gordos**

Preparação da amostra: Descascou-se cerca de 5g de sementes de cacau e procedeu-se à sua trituração em almofariz. A extracção da gordura foi efectuada num extractor Soxhlet durante cerca de 40h, usando éter de petróleo (p.e. 40-60°C).

Conservação: A gordura extraída foi conservada em frascos de vidro hermeticamente fechados e ao abrigo da luz, para que a manteiga de cacau não sofresse alterações.

##### **Purificação da amostra:**

Antes de se proceder à transesterificação, purifica-se a amostra numa coluna de sílica-gel, utilizando hexano/óxido dietílico (87:13, v/v) como solvente de eluição, conforme descrito no método IUPAC 2.507.

##### **Extracção:**

Num tubo de ensaio de 5ml com tampa de rosca, pesa-se cerca de 0,1g da amostra. Junta-se 2ml de heptano (para cromatografia) e agita-se; de seguida junta-se 0,2ml de solução metanólica 2N de hidróxido de potássio, fecha-se bem o tubo de ensaio com a tampa de rosca e agita-se energeticamente durante 30s. Deixa-se repousar até que a parte superior da solução (que contém os ésteres metílicos) fique límpida, decantando de seguida.

##### **Quantificação:**

A análise das soluções de ésteres de ácidos gordos em heptano foi feita por cromatografia em fase gasosa num *Perkin Elmer Autosystem Gas Chromatograph*. As condições cromatográficas utilizadas são as descritas por JOCE (1991b) (Quadro VI).

Quadro VI – Condições cromatográficas para a determinação dos ácidos gordos.

Condições	
<b>Cromatógrafo*</b>	<i>Perkin Elmer Autosystem</i>
<b>Coluna</b>	Capilar Supelco de sílica fundida, com 60m de comprimento 0,25mm de diâmetro interno e 0,2µm de espessura
<b>Temperatura do forno</b>	de 150°C a 230°C, a 5°C/min
<b>Gás vector</b>	Gás inerte (hélio) seco e com um teor de oxigénio inferior a 10mg/kg
<b>Fluxo do gás vector</b>	1,2ml/min
<b>Gases auxiliares</b>	Hidrogénio e ar reconstituído isentos de impurezas orgânicas
<b>Temperatura do detector (de ionização de chama)</b>	250°C
<b>Volume injectado</b>	Geralmente compreendido entre 0,1 e 2µl

\* O cromatógrafo tem acoplado um integrador *PE Nelson 600 Series Link Unit* que permite a realização de cálculos rápidos e rigorosos.

A identificação dos compostos foi feita por comparação dos perfis cromatográficos de ésteres metílicos de ácidos gordos e isómeros trans dos ácidos gordos obtidos, com os referidos na bibliografia (JOCE, 2002).

A quantificação foi realizada através do método de normalização interna, em que se considera que a soma das áreas dos picos correspondentes aos diversos ácidos gordos é igual 100%.

Os resultados foram calculados através da seguinte fórmula:

$$\% \text{ Ácidos gordos} = \frac{\text{área do pico}}{\text{soma das áreas dos picos}} \times 100$$

#### 4.3.5 Determinação dos triacilgliceróis

A preparação da amostra e a conservação é semelhante à efectuada para a determinação dos ácidos gordos.

##### Extracção:

As soluções acetónicas a 5% (m/v) de cada uma das amostras a analisar são preparadas mediante a pesagem de uma toma de  $0,5 \pm 0,001\text{g}$  da amostra num balão volumétrico de 10ml, que se preenche, de seguida, até ao traço com o solvente de solubilização (acetona).

##### Quantificação:

A separação e quantificação dos triacilgliceróis foram realizadas por HPLC num sistema composto por bomba, forno, detector e integrador de recolha e tratamento de dados (*PE Nelson NC1900*). As condições cromatográficas utilizadas foram as descritas por J.O.C.E. (1991a).

Quadro VII – Condições cromatográficas para a determinação dos triacilgliceróis.

Condições	
Bomba	Perkin Elmer – Binary LC Pump 250
Forno ( <i>Alltech 530 Column Heater</i> )	35°C
Detector (IV)	Perkin Elmer LC-30 RI
Volume injectado	10µl
Coluna	Superspher 100 RP-18 de 250mm de comprimento e 4mm de diâmetro interno e granulometria das partículas de 5µm

Depois de ligado o sistema cromatográfico, efectua-se a purga total do mesmo mediante bombagem com o solvente de eluição (mistura de acetonitrilo e acetona em proporções a ajustar a fim de obter a separação desejada, começa-se com uma mistura na proporção 50/50) segundo um fluxo de 1,5ml/mm (JOCE, 1991a).

A identificação dos triacilgliceróis foi feita através de perfis cromatográficos, por comparação com os referidos na bibliografia (Lisa, *et al.*, 2008).

A quantificação foi realizada através do método de normalização interna, em que se considera que a soma das áreas dos picos correspondentes aos diversos triacilgliceróis é igual 100%.



Os resultados foram calculados através da seguinte fórmula:

$$\% \text{ triacilgliceróis} = \frac{\text{área do pico}}{\text{soma das áreas dos picos}} \times 100$$

#### 4.3.6 Determinação do pH e acidez titulável

Moeram-se cerca de 5g de cacau previamente descascado, aos quais se adicionaram 45ml de água destilada fervente. De seguida filtrou-se a suspensão, deixou-se arrefecer até cerca de 20°C e mediu-se o pH num potenciómetro *Crison digit 501*. Para a determinação da acidez toma-se 25ml do mesmo filtrado e após adição de 200ml de água destilada neutralizada titulou-se, na presença de fenolftaleína com uma solução de hidróxido de sódio 0,1N.

#### 4.3.7 Determinação da acidez volátil

Para esta determinação faz-se uma destilação dos ácidos voláteis por arrastamento de vapor em meio ácido, seguido de titulação.

Pesou-se cerca de 5g de cacau previamente tratado (descascado e moído) e adicionou-se 0,2g de ácido tartárico, para acidificação do meio e para libertar os ácidos que estão associados. Procedeu-se à destilação até recolher de cerca de 300ml de destilado. Seguidamente procedeu-se à titulação do destilado (na presença de fenolftaleína), com uma solução de hidróxido de sódio 0,1N.

#### 4.3.8 Determinação do teor de fenóis totais

Preparação da amostra: Descascou-se cerca de 5g de sementes de cacau e posteriormente procedeu-se à sua trituração grosseira em almofariz e colocou-se num extractor Soxhlet. A extracção foi efectuada durante 40h, usando éter de petróleo (p.e. 40-60°C).

Moenda e Conservação: O cacau desengordurado foi moído até granulometria 0,5mm (ASTM n.º35), colocado em caixas hermeticamente fechadas e guardadas em exsiccador.

### Extracção:

O procedimento utilizado baseia-se no descrito por Cros *et al.* (1982), que se fundamenta na medição espectrofotométrica da intensidade da cor produzida por oxidação das substâncias polifenólicas por efeito da reacção com o reagente de Folin – Ciocalteau.

Pesou-se 1g de cacau em pó desengordurado de cada amostra, adicionou-se 40ml de metanol a 70% (v/v) e efectuou-se a extracção durante 45min, a 0°C com agitação magnética. Após filtração no funil de Büchner através de papel de filtro Whatman n.º541, dilui-se com metanol a 70% (v/v) até completar 50ml, obtendo-se o **Extracto Bruto**.

### Quantificação:

Retirou-se 5ml do **extracto bruto** e dilui-se com água destilada, até perfazer os 50ml (**Solução A**).

Acidificou-se 10ml do **extracto bruto** com ácido clorídrico (0,1N), até pH 3,5, de seguida dilui-se com 10ml de água destilada e agitou-se durante 10 minutos com 2g de PVPP (polivinilpolipirrolidona) de forma a eliminar os fenóis. Filtrou-se a solução em funil Büchner com papel de filtro Whatman n.º541 e completou-se o volume de 25ml com água destilada (**Solução B**).

### Doseamento:

Colocou-se em cada tubo de ensaio:

- ◆ 1ml de Solução A, B ou padrão;
- ◆ 5ml de reagente de Folin-Ciocalteau (1:10) (Merck).

Após 3 minutos, adicionou-se 4ml de solução aquosa de carbonato de sódio a 7,5% (m/v), para estabilizar a cor formada. Os tubos foram em seguida colocados na estufa a 40°C, durante 20min. Ao fim do tempo indicado mediu-se a absorvância das soluções no espectrofotómetro UV/Vis ATIUnicam UV2 com c.d.o (comprimento de onda) de 760nm. A quantificação foi realizada através de uma curva padrão de ácido gálico monohidratado (*Panreac*), efectuada para uma gama de concentrações entre 0 a 200µg/ml.

Os resultados foram expressos, segundo a equação:

**Fenóis totais** mg ác. Gálico/g amostra = **A** mg ác. Gálico/g amostra – **B** mg ác. Gálico/g amostra

#### 4.3.9 Determinação do teor de (-)epicatequina e procianidinas

A preparação da amostra, a fase de moenda e conservação é semelhante à efectuada para a determinação do teor de fenóis totais.

##### **Extracção:**

O procedimento utilizado baseia-se no descrito por Jeanjean (1995), com algumas modificações (Fragoso, 1996).

Pesou-se 1g de cacau em pó desengordurado, adicionou-se 100ml de mistura acetona/água ultrapura 75/25 (v/v), e efectuou-se a extracção durante uma hora a temperatura ambiente, com agitação magnética.

A solução foi filtrada em funil de Büchner com papel de filtro Whatman n.º 541 e o pó foi lavado com a mistura acetona/água ultrapura. Transferiu-se, para um funil de separação a solução obtida e saturou-se com NaCl, verificando-se a separação de duas fases (acetónica e aquosa). À fase acetónica (que contém as procianidinas) adicionou-se 2mg de ácido gálico monohidratado (*Panreac*) (padrão interno) diluído em metanol (p.a.), e de seguida evaporou-se.

O resíduo concentrado foi dissolvido em 20ml de água ultrapura, de seguida foi lavado 4 vezes com 20ml de clorofórmio (v/v) para eliminar as xantinas, e mais 4 vezes com 20ml de acetato de etilo. A fase de acetato de etilo que contém as procianidinas foi, depois seca, com sulfato de sódio anidro, filtrada através de papel de filtro Whatman n.º 541 e evaporada a temperatura não superior a 35°C em evaporador rotativo. O resíduo obtido foi recuperado com 5ml de metanol (para cromatografia) e filtrado utilizando o sistema de clarificação de amostras, constituído por uma seringa e adaptador swinny (onde se introduziu um filtro orgânico *Fluoropore* de 0,45µm). Os extractos foram armazenados a -18°C até serem analisados por cromatografia.

##### **Quantificação:**

A separação da (-)epicatequina e procianidinas foi efectuada por cromatógrafo HPLC Beckman, equipado com um detector de fotodiodos, seleccionado na gama do espectro de detecção de 230- 310nm, numa coluna reversa Merck 100 RP-18 (com granulometria das partículas de 5 µm) de 250mm de comprimento e 4mm de diâmetro interno.

A identificação dos compostos foi feita através de perfis cromatográficos e dos espectros obtidos no sistema de detecção de fotodiodos, por comparação com os referidos na bibliografia (Fragoso, 1996).

### Condições Cromatográficas:

As condições cromatográficas utilizadas foram as descritas por Jeanjean (1995).

Quadro VIII – Condições cromatográficas utilizada na determinação do teor em (-)  
)epicatequina e procianidinas.

Condições						
Fase móvel	Eluente A – ácido fosfórico 2mM; Eluente B – metanol (100%)					
Gradiente:	T(min)	0	48	53	58	63
	% de B em A	5	100	100	5	5
Fluxo	1,0ml/min					
Detecção	280nm					
Volume injectado	20µl					

A quantificação da (-)epicatequina e das procianidinas foi efectuada pelo método do padrão interno, usando o ácido gálico como proposto por Jeanjean (1995). Este método entra com as possíveis perdas ocorridas durante a extracção, tendo-se por isso considerado o mais correcto para esta quantificação.

Considerou-se que as procianidinas têm o mesmo factor de resposta que a (-)epicatequina, baseados nos resultados obtidos Jeanjean (1995).

Os resultados foram calculados através da seguinte fórmula:

$$[ ]_i = \frac{(A \cdot Rf)_i \cdot [ ]_{Pi}}{(A \cdot Rf)_{Pi}}$$

Onde:

- $[ ]_i$ : Concentração do composto analisado; procianidinas ou (-)epicatequina em mg/g de cotilédones desengordurados.
- $A_i$ : Área do pico em cada determinação.
- $Rf_i = [ ]_i / A_i$ : Factor de resposta da (-)epicatequina, determinado quando se fez a injeção de uma solução padrão de (-)epicatequina e ácido gálico
- $[ ]_{Pi}$ : Quantidade de ácido gálico (padrão interno) adicionado à amostra.
- $A_{Pi}$ : Área do pico do padrão interno, em cada determinação.
- $Rf_{Pi} = [ ]_{Pi} / A_{Pi}$ : Factor de resposta do padrão interno, determinado quando se fez a injeção de uma solução padrão de (-)epicatequina e ácido gálico.

#### **4.3.10 Confeção dos chocolates e Análise Sensorial**

Para a prova foram confeccionados bombons maciços. Procedeu-se à torra de uma amostra de cacau a  $150\pm 2^{\circ}\text{C}$  cerca de 30 minutos numa estufa *Heraeus*, de acordo com os resultados da optimização do grau de torra de cacau Amelonado de São Tomé obtidos por Almeida (1998). De seguida para que não ocorra uma sobretorra as sementes foram arrefecidas em tabuleiro de malha aberta. As sementes foram sujeitas a quebra e separação e levou-se novamente à estufa a  $50\pm 2^{\circ}\text{C}$  para que a manteiga de cacau funda e se obtenha uma pasta. A esta pasta foi adicionada manteiga de cacau, açúcar em pó e lecitina, originando uma nova pasta. A nova pasta foi temperada ( $T_{\text{máx.}} 33^{\circ}\text{C}$ ), para formação de cristais estáveis. Por fim foi feita a moldagem em formas de plástico. O chocolate sofreu acção de vibração para assegurar a distribuição uniforme, seguindo-se a refrigeração ( $10^{\circ}\text{C}$ ) por 50 minutos.

Os bombons foram confeccionados e desenformados em simultâneo pouco antes da realização das provas, de forma a minimizar as alterações que pudessem surgir devido à sua exposição prolongada ao ar.

As sessões de prova foram realizadas na sala de provas do Laboratório de Estudos Técnicos (L.E.T.) do Instituto Superior de Agronomia.

O painel de provadores foi formado por 7 elementos constituindo um grupo homogéneo, na medida em que dele fizeram parte pessoas familiarizadas em provas sensoriais e portanto com experiência e treino a este nível.

A avaliação sensorial dos bombons realizou-se através de uma folha de prova por nós elaborada (Anexo I). A aparência, o cheiro, o sabor e a textura foram avaliados numa escala de 0 a 5.

#### **4.3.11 Tratamento estatístico**

Na análise dos dados, foi utilizado o teste ANOVA (*Single Factor*), utilizando o software *Microsoft Office Excel 2007* que permite avaliar vários factores de cada amostra, como a soma, a média, a variância. As amostras só se consideram significativamente diferentes se o *p-value*  $< 0,05$ .

## 4.4 Resultados e Apreciação

### 4.4.1 Caracterização físico-química geral

Os resultados obtidos na caracterização das características físico-químicas gerais das amostras são apresentados no Quadro IX.

Quadro IX - Resultados da caracterização físico-química geral das diferentes amostras.

Análise Físico-Química	Amostras				
	Catongo Não Fermentado	Catongo Fermentado	Amelonado Fermentado	Amelonado Híbrido Não Fermentado	Amelonado Híbrido Fermentado
Humidade dos cotilédones(%)	N.A.	4,8	6,4	N.A.	6,2
Massa 100 sementes (g)	N.A.	115,0	168,7	N.A.	170,3
Gordura* (%) <sup>a</sup>	54,3	53,6	52,3	52,7	51,5
Gordura* (%) <sup>b</sup>	58,8	62,4	65,9	53,9	56,9
pH	N.A.	5,1	5,3	N.A.	5,6
Acidez titulável (meq NaOH/g)	N.A.	0,16	0,22	N.A.	0,19
Acidez volátil (% ác. acético)	N.A.	1,88	1,31	N.A.	0,93

\* Valores expressos em relação à matéria seca

<sup>a</sup> Amostras sem tratamento prévio com HCl

<sup>b</sup> Amostras com tratamento prévio com HCl

N.A. – Não Aplicado

#### 4.4.1.1 Massa das sementes

A massa das sementes depende das características do cacauzeiro, dos cuidados no cultivo e das condições climáticas, principalmente as condições pluviométricas em que a planta se desenvolveu.

O valor normalmente aceite para a massa de cada semente situa-se entre os 1,0 – 1,2g (Wood, 1987).

Pelos valores normalmente aceites por Wood (1987) mencionados anteriormente, conclui-se que o resultado obtido para o cacau Catongo (m =115,0g), para o cacau Amelonado (m= 168,7g) e para o cacau Amelonado Híbrido (m=170,3g) garantem a aceitação do cacau comercial, em termos da massa das sementes.

#### **4.4.1.2 Teor de humidade (perda de massa por secagem) dos cotilédones**

O teor de humidade depende do tipo de secagem e condiciona a conservação das sementes. Nesta determinação, o valor médio obtido para o cacau Catongo foi de 4,8%, para o cacau Amelonado foi de 6,4% e para o cacau Amelonado Híbrido foi de 6,2%, ou seja, o teor de humidade não é superior a 7,5% garantindo a sua qualidade comercial. Como foi referido por Minifie (1989), só a partir de teores de 8% (teor máximo) é que há risco de aparecimento de sementes contaminadas por fungos e insectos, pelo que não deveram ocorrer riscos deste nível.

#### **4.4.1.3 Teor de gordura (extracto etéreo)**

A gordura é um parâmetro fundamental para a avaliação da qualidade do cacau, e o seu teor depende das características genéticas da planta, das condições em que a cultura se desenvolve e do perfeito estado de maturação do fruto. Os valores encontrados para o cacau da África Ocidental variam entre 56 – 58% de gordura na semente seca (Santos, 1988).

Para esta determinação deve-se seguir o procedimento indicado na NP- 1719 (1981), em que a extracção da gordura é precedida por um tratamento com ácido clorídrico. Neste estudo optou-se, contudo, por também por proceder à extracção, nas mesmas condições das indicadas na norma mas sem que estas sofressem ataque ácido, a fim de comparar a quantidade de gordura extraída pelo dois métodos.

Para as amostras sujeitas a ataque ácido verifica-se que as amostras fermentadas apresentam maior teor de gordura que as respectivas amostras não fermentadas (Fig. 10).

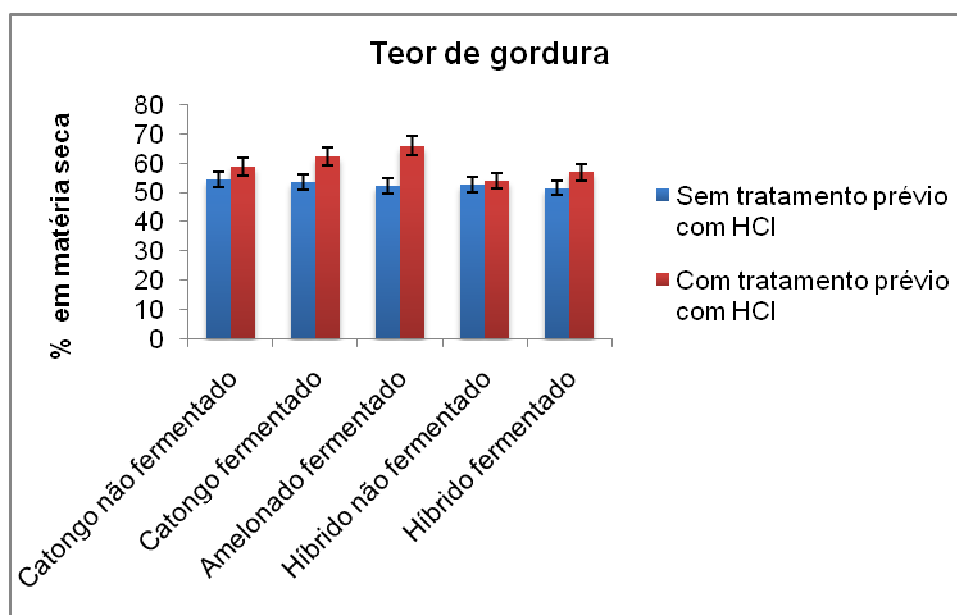


Figura 10 – Teores de gordura das diferentes amostras, com e sem tratamento com HCl.

No que se refere ao teor de extracto etéreo com ataque ácido, verificamos que os teores encontrados nas diferentes amostras se situam nos valores aceitáveis para o cacau da África Ocidental, e que durante a fermentação se verifica um aumento do teor de gordura. Para o cacau Catongo e cacau Amelonado, pode-se ainda verificar que estes apresentam, nas sementes fermentadas, teores superiores a 60%, sendo conotados a nível da indústria como um cacau de excelente qualidade (Almeida, 1998).

Nas amostras não submetidas a ataque ácido verifica-se o inverso, ou seja, há um decréscimo (mínimo) do teor de gordura nas sementes fermentadas (Fig. 10). Esta diferença, em relação às sementes sujeitas a ataque ácido, poderá estar relacionada com o efeito que o HCl exerce sobre as sementes, uma vez que este destrói os glóbulos de gordura.

#### 4.4.1.4 Acidez

Estes parâmetros são de difícil comparação entre amostras, devido à grande volatilidade do ácido acético, em que os teores dependem da forma como decorreu a fermentação, a secagem e o armazenamento. Portanto, assim que as amostras foram recepcionadas tivemos o cuidado de as colocar em frascos hermeticamente fechados, não tendo informação quanto à forma de acondicionamento do produto desde a secagem até ao seu envio para Lisboa.



Para a determinação destes três parâmetros efectuou-se uma réplica. Devendo ainda ter em conta que na acidez titulável, além dos ácidos voláteis contribuem também os ácidos não voláteis, como é o caso do ácido cítrico.

Os valores apresentados no quadro X representam os valores médios para cada amostra.

Quadro X – Valores médios de acidez titulável, acidez volátil e pH nas amostras fermentadas (cotilédones secos).

<b>Amostras</b>	<b>Acidez titulável (meq NaOH/g)</b>	<b>Acidez volátil (% ác. acético)</b>	<b>pH</b>
<b>Cacau Catongo</b>	0,16	1,88	5,08
<b>Cacau Amelonado</b>	0,22	1,31	5,34
<b>Cacau Amelonado Híbrido</b>	0,19	0,93	5,57

Pelas razões mencionadas acima, pensamos que a forma mais correcta de avaliar as amostras em termos de acidez, será atender sobretudo aos valores de pH, tal como proposto por Jinap e Dimick (1990).

Baseados nos resultados obtidos por Almeida (1998) (quadro XI), procurou-se classificar as amostras estudadas em função do seu pH. Verifica-se que o cacau Catongo é um cacau bastante diferente só se podendo comparar em termos de pH, assumindo-se, assim, que é um cacau de acidez elevada. O cacau Amelonado já mais de acordo com os limites propostos pelo quadro permite classifica-lo como um cacau de acidez média, e por fim o cacau Amelonado Híbrido é classificado por nós como um cacau de acidez baixa.

Quadro XI – Valores extremos de acidez volátil e titulável para diferentes valores de pH.

<b>Amostras</b>		
<b>pH</b>	<b>Acidez titulável (meq NaOH/g)</b>	<b>Acidez volátil (% ác. acético)</b>
<b>cacau com pH baixo</b>		
<b>pH 4,75 a 5,19</b>	0,17 – 0,37	0,25 – 1,42
<b>cacau com pH médio</b>		
<b>pH 5,20 a 5,49</b>	0,18 – 0,30	0,5 – 1,0
<b>cacau com pH elevado</b>		
<b>pH 5,50 a 5,80</b>	0,15 – 0,23	0,13 – 0,9

(Adaptado de Almeida (1998))

#### **4.4.2 Composição da gordura**

##### **4.4.2.1 Ácidos Gordos**

Verificou-se que os ácidos dominantes na manteiga de cacau são o ácido esteárico, o ácido oleico e o ácido palmítico, seguindo-se, em menores quantidades, o ácido linoleico e o ácido araquídico, o que está de acordo com o referido em Rebelo (2002).

No entanto a quantidade destes ácido principais difere nas amostras, verificando-se diferenças entre amostras e entre sementes não fermentadas e fermentadas (quadro XII e Anexo II).

Quadro XII – Ácidos gordos quantificados nas amostras. (% em massa seca da gordura)

Ácido Gordo	Cacau Catongo		Cacau Amelonado	Cacau Amelonado Híbrido	
	Não Fermentadas	Fermentadas	Fermentadas	Não Fermentadas	Fermentadas
<b>C12:0 Ácido láurico</b>	N.D.	0,02	N.D.	N.D.	N.D.
<b>C14:0 Ácido mirístico</b>	0,05	0,06	0,07	0,05	0,02
<b>C15:0 Ácido pentadecanóico</b>	0,02	0,02	0,03	0,03	0,02
<b>C16:0 Ácido palmítico</b>	<b>24,31</b>	<b>23,78</b>	<b>25,57</b>	<b>24,65</b>	<b>29,73</b>
<b>C16:1 Ácido palmitoleico</b>	0,31	0,30	0,25	0,23	0,24
<b>C17:0 Ácido margárico</b>	0,27	0,21	0,31	0,33	0,24
<b>C17:1 Ácido margaroleico</b>	0,02	0,02	0,03	0,03	0,02
<b>C18:0 Ácido esteárico</b>	<b>35,69</b>	<b>35,33</b>	<b>36,00</b>	<b>34,49</b>	<b>33,86</b>
<b>C18:1 Ácido oleico</b>	<b>34,88</b>	<b>35,72</b>	<b>33,82</b>	<b>33,36</b>	<b>32,12</b>
<b>C18:2 Ácido linoleico</b>	<b>2,95</b>	<b>3,08</b>	<b>2,46</b>	<b>2,31</b>	<b>2,05</b>
<b>C18:3 Ácido linolénico</b>	0,17	0,17	0,17	0,17	0,13
<b>C20:0 Ácido araquídico</b>	<b>1,01</b>	<b>0,97</b>	<b>1,00</b>	<b>1,01</b>	<b>1,18</b>
<b>C20:1 Ácido gadoleico</b>	0,05	0,06	0,05	0,05	0,04
<b>C22:0 Ácido beénico</b>	0,19	0,19	0,16	0,18	0,19
<b>C24:0 Ácido lignocérico</b>	0,08	0,07	0,08	0,11	0,12
<b>Isómeros Transoleicos</b>	0,12	0,03	0,03	0,03	0,02
<b>Isómeros Translinoleicos + Translinolénicos</b>	0,01	N.D.	N.D.	0,05	N.D.

N.D. – Não detectado;

**Ácidos Gordos dominantes**

No quadro XII, pode-se verificar que os valores quantificados nas amostras estão dentro do intervalo de valores apresentado no quadro III. No caso do ácido esteárico a amostra que apresenta maior valor é o cacau Amelonado, já para o ácido oleico a amostra com maior valor é o cacau Catongo, e para o ácido palmítico a amostra que apresenta valores mais elevados é o cacau Amelonado Híbrido; ou seja, todas as amostras têm um ácido dominante diferente. Quanto ao ácido linoleico e o ácido araquídico os valores são próximos entre todas as amostras, destacando-se o cacau Catongo com maior valor de ácido linoleico. No entanto, aplicando o teste ANOVA (Anexo III), conclui-se que as amostras não apresentam diferenças significativas entre si, uma vez que  $p\text{-value} = 0,9999 > 0,05$ .

Ainda pela observação do quadro XII, verifica-se que apenas as amostras não fermentadas apresentam isómeros translinoleicos + translinolénicos.

#### **4.4.2.2 Triacilgliceróis**

Tal como se pode verificar no quadro XIII, e nos cromatogramas (Anexo II) a quantidade dos triacilgliceróis difere com as amostras, verificando-se diferenças entre os diferentes tipos de cacau e, também, entre sementes não fermentadas e fermentadas.

Quadro XIII – Triacilgliceróis presentes nas amostras. (% em massa seca da gordura)

Triacilglicerol	Cacau Catongo		Cacau Amelonado	Cacau Amelonado Híbrido	
	Não Fermentadas	Fermentadas	Fermentadas	Não Fermentadas	Fermentadas
OOO	0,6255	0,108	0,3762	0,1525	0,3808
SLO	0,3192	0,8394	0,1992	0,1162	0,1591
OOP	1,5961	1,6663	1,7339	1,8577	1,6408
?	0,4158	0,6475	0,2235	N.D.	0,2393
SLP	4,369	6,0717	2,9964	1,5023	2,3792
POP	16,8304	16,2091	18,6169	24,2163	20,9723
PPP	0,1096	0,1109	0,166	0,2251	0,1524
MOP	0,2649	0,1232	0,3525	0,4023	0,4328
SOO	5,5513	7,872	3,9564	1,3485	2,9438
SOP + SLS	39,4952	37,5341	41,3196	43,931	42,5619
SPP	0,1571	0,2179	0,3013	0,5345	0,4983
SOM	0,4282	0,2601	0,444	0,5104	0,5419
AOO	N.D.	0,2343	0,0759	N.D.	N.D.
SOS	28,237	27,3621	28,5758	24,3239	26,5366
SSP	N.D.	0,2807	0,4394	0,6547	0,4335
BOP+AOS	1,46	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
POP+SOP+SOS	84,5626	81,1053	88,5123	92,4712	90,0708

N.D. – Não detectado

#### Triacilgliceróis dominantes

Os valores apresentados no quadro XIII, obtidos nas amostras estudadas, diferem, na sua maioria, ligeiramente dos valores apresentados no quadro IV.

Tal como indicado em Rebelo (2002), os triacilgliceróis dominantes na manteiga de cacau são o SOP, o SOS e o POP, seguindo-se o SOO e o OOP em menores quantidades.

Os triacilgliceróis monoinsaturados SOP, SOS e POP correspondem a mais de 80% do total de triacilgliceróis das amostras.

O triacilglicerol SOP varia entre 38 e 44%, o SOS varia entre 24 e 29%, e o POP varia entre 16 e 24% para as diferentes amostras. Da análise do quadro XIII destaca-se ainda um outro triacilglicerol (SLP) que não foi mencionado anteriormente mas que se destacou nos perfis cromatográficos.

Para o triacilglicerol SOP e POP a amostra que apresenta maior valor é o cacau Amelonado Híbrido, já para o triacilglicerol SOS a amostra que apresenta maior valor é o cacau Amelonado. O cacau Catongo destaca-se com maiores valores nos triacilgliceróis SLP e SOO.

No entanto, aplicando o teste ANOVA (Anexo III), conclui-se que as amostras não apresentam diferenças significativas entre si, uma vez que o  $p\text{-value}= 0,9995>0,05$ .

Ainda pela observação do quadro XIII, verifica-se que apenas a amostra não fermentada de cacau Catongo apresenta o triacilglicerol BOP+AOS.

#### 4.4.3 Polifenóis

Os resultados obtidos durante a determinação dos compostos fenólicos e teobromina são apresentados no Quadro XIV.

Quadro XIV – Compostos polifenólicos e teobromina nas diferentes amostras.

	Amostras				
	Catongo Não Fermentado	Catongo Fermentado	Amelonado Fermentado	Amelonado Híbrido Não Fermentado	Amelonado Híbrido Fermentado
(-)	20,19	3,07	2,33	-	-
<b>Epicatequina</b>					
<b>Procianidina B2</b>	4,04	0,61	0,58	-	-
<b>Procianidina B5</b>	1,65	0,27	0,27	-	-
<b>Procianidina C1</b>	4,19	0,57	0,41	-	-
<b>Fenóis Totais</b>	82,37	34,26	29,73	84,30	46,53
<b>Teobromina</b>	6,35	4,15	4,15	-	-

\* Teores expressos em mg ác. gálico/g cacau seco desengordurado

#### 4.4.3.1 Fenóis Totais

Os compostos polifenólicos é um grupo que desempenha um papel importante a nível da qualidade do cacau comercial, sendo responsáveis pela cor e adstringência das sementes.

Os fenóis são capazes de formar interações com as proteínas do palato originando o gosto adstringente característico. Por outro lado, são muito susceptíveis à oxidação enzimática havendo a possibilidade de ocorrência de reacções de polimerização oxidativa não enzimática (Almeida, 1990).

Pela observação da Fig. 11 (e Quadro XIV) pode-se verificar que o teor de fenóis totais diminui durante o processo de fermentação. O cacau Amelonado Híbrido apresenta maiores valores tanto nas sementes não fermentadas como fermentadas, tendo-se verificado, nesta amostra, uma redução de cerca de 45% de fenóis totais durante a fermentação. O cacau Catongo apresenta valores inferiores em relação à amostra anterior e sofreu uma redução do teor inicial de fenóis de aproximadamente 58%. O cacau Amelonado é a amostra que apresenta menor valor de fenóis totais das sementes fermentadas. Não foi possível estudar amostras frescas deste tipo de cacau mas se adoptarmos os valores obtidos por Almeida (1998) com sementes de características e tratamento pós-colheita semelhantes poderemos assumir uma redução de cerca de 68% no teor de fenóis totais.

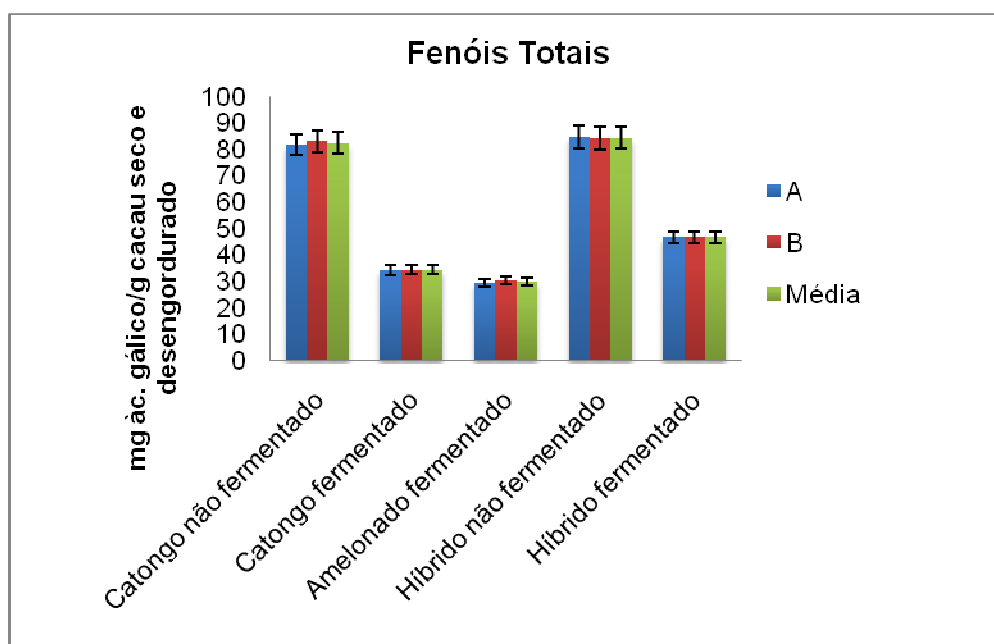


Figura 11 – Evolução do teor de fenóis totais pós-fermentação.

A quantidade de fenóis totais nas sementes não fermentadas de cacau Catongo (cerca de 82 mg/ g cacau seco e desengordurado) é superior ao valor referido por Jeanjean (1995).

Esta autora verificou um decréscimo do teor de fenóis totais de 70 – 80% em amostras fermentadas ao longo de 8 dias e secas ao sol. Nas amostras de Catongo agora estudadas, ocorreu um decréscimo de cerca de 58%. Esta diferença pode-se dever à diferente origem e qualidade das amostras de cacau e ao tipo de tecnologia pós-colheita adoptado.

Através do teste ANOVA (Anexo III), conclui-se que as amostras utilizadas no estudo apresentam diferenças significativas entre si, uma vez que o  $p\text{-value} = 5 \times 10^{-9} < 0,05$ , no que diz respeito ao seu teor de fenóis totais.

#### 4.4.3.2 (-)Epicatequina e procianidinas

Pela observação dos cromatogramas (Anexo II) é evidente que as procianidinas mais comuns em qualquer das amostras são as do tipo B, nomeadamente B2 e B5, que são consideradas dímeros de unidades de (-)epicatequina. Além destes dímeros foi também identificado o trímero procianidina C1, o monómero (-)epicatequina e a teobromina. A identificação destes compostos foi baseada no cromatograma apresentado por Villeneuve *et al.* (1989).

Os teores de (-)epicatequina e das procianidinas sofrem um decréscimo acentuado durante a fermentação (Figura 12).

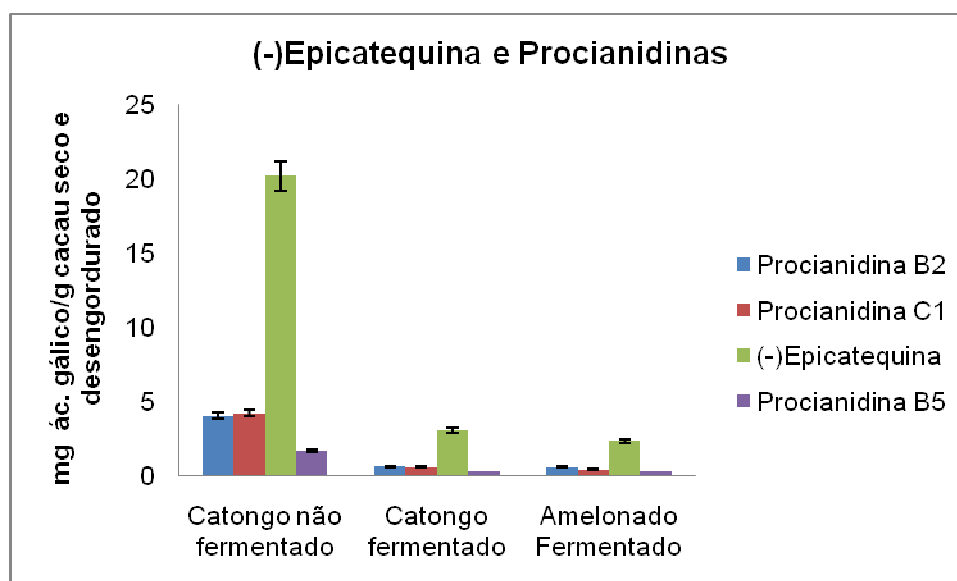


Figura 12 – Teores de (-)epicatequina e procianidinas nas amostras de Cacau Catongo e Amelonado.



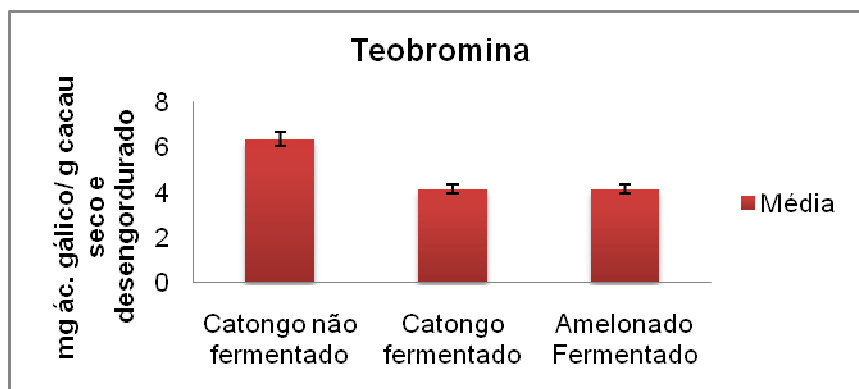


Figura 13 – Teores de teobromina nas amostras de cacau Catongo e Amelonado.

Em amostras fermentadas ao longo de 8 dias e secas ao sol, Jeanjean (1995) referiu um decréscimo de cerca de 90% das procianidinas enquanto que Villeneuve *et al.* (1989) obteve um decréscimo de cerca de 90% nos flavanóis.

Pela observação da Fig. 12, verifica-se, no cacau Catongo, que tanto a (-)epicatequina como a procianidina B2 sofreram reduções de aproximadamente 85%.

Para a procianidina B5 verifica-se que ocorreu um decréscimo aproximado dos 84% para a mesma amostra, já a procianidina C1 teve um decréscimo de cerca de 86%. Também para esta amostra o decréscimo de flavanóis foi cerca de 85%.

Os valores destes decréscimos são próximos dos registados por Jeanjean (1995) e Villeneuve *et al.* (1989).

A quantidade de (-)epicatequina e procianidina B2 determinada nas amostras de cacau Catongo e cacau Amelonado difere dos valores referidos por Jeanjean (1995): 50mg/g e 20mg/g de cacau seco e desengordurado para a (-)epicatequina e a procianidina B2, respectivamente. No entanto, o cacau utilizado no estudo foi diferente e portanto há variáveis que não foram controladas.

O decréscimo acentuado destes compostos dever-se-á a um conjunto de fenómenos, como a difusão, tanagem das proteínas e oxidação, sem que qualquer um deles possa, porém, explicar por si só a evolução observada (Almeida, 1998).

Segundo Villeneuve *et al.* (1989), a difusão para o exterior dos cotilédones depende em primeiro lugar das propriedades físico-químicas dos compostos, e em segundo lugar, o

aumento da permeabilidade das membranas celulares, sob a influência da temperatura e ácido acético produzido pela fermentação da polpa.

A diminuição dos flavanóis a partir da tanagem das proteínas não parece ser resultado da formação dos complexos proteína-tanino, a diminuição da razão procianidinas/(-)epicatequinas verifica-se pois apenas as formas oligoméricas têm propriedades de tanagem (Villeneuve *et al.*, 1989).

Finalmente, a perda por oxidação oferece duas possibilidades. A primeira deve-se ao contacto enzima-substrato que ocorre aquando a “morte” da semente. A segunda via de oxidação deve-se à polimerização não enzimática a partir da fase final da fermentação e secagem, mas esta hipótese deve ser confirmada por estudos mais aprofundados (Villeneuve *et al.*, 1989).

Como curiosidade e para sublinhar a importância destes compostos, refere-se que estudos realizados no IRCC (Institut de Recherches du Café et du Cacao et autres Plantes Stimulants) demonstraram que o decréscimo da adstringência ao longo da fermentação tem um perfil semelhante ao da (-)epicatequina e procianidinas, o que levou a concluir que existe uma relação directa entre estas substâncias polifenólicas e a adstringência da semente (Almeida, 1990).

Em relação à teobromina, e observando a Fig. 13, constata-se um decréscimo ao longo da fermentação (aproximadamente 35%) este decréscimo está de acordo com os resultados de Timbie *et al.* (1978).

Nada se pode concluir a respeito do decréscimo ocorrido ao longo da fermentação para a amostra de cacau Amelonado pois não temos comparação com sementes não fermentadas. No entanto observa-se, para todos os compostos, que os valores são próximos do cacau Catongo fermentado.

Não mencionamos, neste trabalho, os valores obtidos para o cacau Amelonado Híbrido, uma vez que estes nos pareceram dúbios. Posteriormente será feita nova análise para concluir sobre os valores obtidos, uma vez que não sabemos se estes se devem ao seu carácter híbrido ou a um erro ocorrido na execução do método.

Através do teste ANOVA (Anexo III), conclui-se que as amostras não apresentam diferenças significativas entre si, uma vez que o  $p\text{-value} = 0,1134 > 0,05$ .

#### 4.4.4 Análise Sensorial

Realizou-se uma prova sensorial preliminar, em que se deu a provar bombons com diferentes teores de cacau. Os bombons foram confeccionados com 60 e 70% de cacau Amelonado. Através da análise das respostas nas folhas de prova (Anexo I), concluiu-se que os provadores preferiram os bombons com 60% de cacau (Anexo IV). Esta análise sensorial preliminar serviu como ponto de partida para a confecção dos bombons para as provas finais.

Nas provas sensoriais finais confeccionou-se bombons maciços com teor de cacau de 60% (Fig.14), a partir das amostras de cacau Catongo, cacau Amelonado e cacau Amelonado Híbrido.

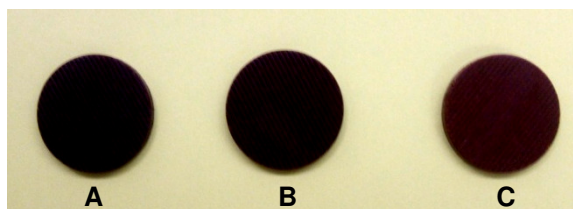


Figura 14 – Bombons (A – Cacau Amelonado, B- Cacau Amelonado Híbrido, C- Cacau Catongo)

Pela observação da figura 14 pode-se verificar que os bombons diferem a nível da cor, sendo a sua intensidade decrescente de A para C. Através da foto não é perceptível o brilho, mas este estava presente em todas as amostras.

Efectuou-se duas provas sensoriais com uma semana de intervalo, para verificar a viabilidade dos resultados apresentados pelos provadores. No entanto, na segunda prova sensorial e durante uma semana de armazenamento, os bombons deveram ter estado na presença de humidade, ocorrendo *sugar- bloom* impossibilitando a avaliação do brilho.

Os resultados da primeira prova sensorial final sujeitos a tratamento estatístico pelo teste ANOVA (Anexo V), permitiram concluir que as amostras apresentam diferenças significativas ( $p\text{-value} < 0,05$ ) na aparência ( $p\text{-value} = 3 \times 10^{-9}$ ), no sabor ( $p\text{-value} = 1 \times 10^{-13}$ ) e na textura ( $p\text{-value} = 0,001$ ).

Na segunda prova sensorial final e utilizando o mesmo tratamento estatístico nas folhas de prova (Anexo V), conclui-se que as amostras apresentam diferenças significativas a nível

da aparência ( $p\text{-value} = 1 \times 10^{-9}$ ) e no sabor ( $p\text{-value} = 4,22 \times 10^{-23}$ ), não se manifestando diferença na textura, ao contrário do ocorrido na primeira análise sensorial

Apesar das alterações que a amostra sofreu na segunda prova e à incapacidade de observação do brilho dos bombons, podemos verificar, através do tratamento estatístico, que os chocolates nas provas sensoriais finais diferem na aparência e sabor.

## 5. Conclusões

Este trabalho visou estudar sementes não fermentadas e sementes fermentadas de Cacau Catongo de modo a avaliar as suas características de qualidade físico-químicas e sensoriais.

A ausência da doença “Vassoura de Bruxa” (*Crinipellis perniciosa*) em São Tomé e Príncipe, doença à qual esta espécie é altamente susceptível, poderá revelar-se um factor interessante para a cultura destas plantas no país.

Realizámos os nossos estudos em três diferentes tipos de cacau provenientes de São Tomé e Príncipe, com o objectivo de comparar o Cacau Catongo com outro material produzido no país.

Os nossos resultados permitem-nos concluir que:

- 1 – Em termos de massa das sementes, o cacau Catongo encontra-se dentro do valor que garante a aceitação como cacau comercial de qualidade. No entanto a sua massa foi menor que as restantes amostras.
- 2 – O cacau Catongo apresenta valores superiores de teor de gordura aos referidos para o cacau da África Ocidental, conotando-se a nível da indústria como um cacau de excelente qualidade. O seu valor (58,8 e 62,4%, respectivamente nas sementes não fermentadas e fermentadas) é superior à amostra de cacau Amelonado Híbrido (53,9 e 56,9%) e próximo do cacau Amelonado (65,9%).
- 3 – Relativamente à composição em ácidos gordos, confirmou-se a presença dos ácidos maioritários na manteiga de cacau em todas as amostras. O cacau Catongo destaca-se, porém, por apresentar maiores quantidades de ácido oleico (18:1) e de ácido linoleico (18:2) (35,72 e 3,08%, respectivamente), ou seja, maior quantidade de gordura insaturada, logo mais saudável.
- 4 – Todas as amostras apresentam os triacilgliceróis dominantes. No cacau Catongo o somatório dos três principais triacilgliceróis (SOP, SOS, POP) é inferior às demais amostras. Neste tipo de cacau destaca-se os triacilgliceróis SOO e SLP.
- 5 – Em termos de acidez, a amostra de cacau Catongo estudada apresentou acidez elevada, diferindo do cacau Amelonado, com acidez média, e o cacau Amelonado Híbrido, com acidez baixa. De notar, porém que esta característica depende também da colheita, tecnologia pós-colheita e armazenamento, não se podendo, pois, atribuir o seu valor apenas às características genéticas da planta.
- 6 – As amostras revelaram uma diminuição do teor de fenóis totais, ocorrida durante a fermentação e secagem. Nas sementes não fermentadas, o cacau Catongo apresenta o

valor mais baixo (82,37 mg ác. gálico/g cacau seco e desengordurado), embora dentro dos valores habituais do cacau Amelonado. Nas sementes fermentadas, apresenta um valor intermédio (34,26 mg ác. gálico/g cacau seco e desengordurado), comparando com as demais amostras.

7 – Os teores de (-)epicatequina e procianidinas durante o processo de fermentação e secagem sofrem uma diminuição acentuada, o que está de acordo com o referido ao longo do trabalho, devido às reacções físico-químicas que estes compostos sofrem. A teobromina, por sua vez, sofreu um decréscimo, o que está de acordo com os resultados verificados na bibliografia.

8 – Por fim, da análise sensorial das amostras, conclui-se que o cacau Catongo difere das demais amostras na aparência, uma vez que apresenta menor intensidade na cor castanha, e no sabor pois foi considerado como a amostra mais doce e com menor sabor a cacau.

Considera-se de grande importância uma continuidade do estudo deste tipo de cacau, que permitam clarificar as características da população a que pertence bem como um melhor conhecimento das transformações que ocorrem durante as operações pós-colheita e, sobretudo, as possíveis vantagens da sua utilização industrial.

## Referências Bibliográficas

- ◆ Agrícola Cantagalo, Ltda (2009), *A História das Fazendas Cantagalo*, In: [http://cacaucantagalo.com/nossa\\_historia.htm](http://cacaucantagalo.com/nossa_historia.htm), consultado em 4 de Novembro 2009.
- ◆ Almeida, M. H. G. (1990), *A Tecnologia do Cacau – Influência na formação do “flavour”*, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa.
- ◆ Almeida, M. H. G. (1998), *Cacau – Tecnologia Pós-Colheita. A Fracção volátil no “flavour”*, Dissert. Provas Dout. Engenharia Agro – Industrial, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa.
- ◆ Almeida, M. H. G. (2005), *Apontamentos da cadeira de Indústria dos Estimulantes*, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, ano lectivo 2005/2006.
- ◆ AOAC (American Organization of Agricultural Chemistry) (1978), *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, Washington, AOAC.
- ◆ Arês, P. I. B. (1992), *Industrialização do cacau. Algumas características físico-químicas da fracção lípidica de derivados do cacau*, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa.
- ◆ Bartley, B. G. D. (2005), *The Genetic Diversity of CACAO and its Utilization*, Oxfordshire, CAB Publishing.
- ◆ Beckett, S.T. (1988), *Industrial chocolate manufacture and use*, E.U.A, AVI.
- ◆ Biehl *et al.* (1977), Subcellular structures in fermenting cocoa beans. Effect of aeration and temperature during seed and fragment incubation, *J. Sci. Food Agric.*, **28** (1): 41-52 (citado por Almeida, 1990).
- ◆ Brennan, J. G. (1988), Texture Perception and Measurement, In: Piggott, J. R., *Sensory Analysis of Foods*, Second Edition, London, Elsevier Applied Science, pp. 69 – 101.

- ◆ CEPLAC (2008), *Cacau – História e Evolução*, In: [http://www.ceplac.gov.br/radar/radar\\_cacau.htm](http://www.ceplac.gov.br/radar/radar_cacau.htm), consultado em 28 de Outubro de 2008.
  
- ◆ Chiappini *et al.* (2005), Validação de um desenho experimental para testes sensoriais comparativos com muitas amostras, *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, **25** (3): 475 – 479.
  
- ◆ Cook, L. R. (1982), *Chocolate Production and Use*, New York, Harcourt Brace Jovanovich, Inc..
  
- ◆ Cros *et al.* (1982), Recherche d'un indice de fermentation du cacao: II. Estimation de la matière colorante rouge des fèves de cacao, *Café Cacao Thé*, **26** (2): 115 – 122.
  
- ◆ Crouzillat D., Phillips W., Fritz, P. J., Pétiard, V. (2000), Quantitative trait loci (QTL) analysis in *Theobroma cacao* using molecular inheritance of polygenic resistance to *Phytophthora palmivora* in two related cacao population, *Euphytica*, **114** : 25 – 36.
  
- ◆ Jeanjean, D. N. (1995), *Influence du genotype, de la fermentation et de la torrefaction sur le development de l'arome cacao. Role des precurseurs d'arome*, These de Doctorat, Montpellier, Université de Montpellier II.
  
- ◆ Ferrão, J. E. M. (2002), *Cacau – Tecnologia pós-colheita*, Lisboa, Instituto da Cooperação Portuguesa, Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e da Pescas.
  
- ◆ Fragoso, R. A. (1996), *Influência da Tecnologia Pós- Colheita nos Parâmetros de Qualidade do Cacau – Estudo da Evolução dos Compostos Fenólicos durante a Fermentação*, Instituto de Investigação Científica Tropical, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.
  
- ◆ Forsyth, W. G. C., Quesnel, V. C. (1957), Cacao glycosidase and colour changes during fermentation, *J. Sci. Food Agric.*, **8** (9): 505-509 (citado por Almeida, 1990).
  
- ◆ Gramacho, I.C.P., Magno, A.E.S., Mandarino, E.P., Matos, A. (1992), *Cultivo e Beneficiamento do Cacau na Bahia*, 1ª ed., Ilhéus, CEPLAC/CEDEX (citado por Neto *et al.*, 2005).



- ◆ Hancock, B. L. (1988), Cocoa bean production and transport, *In: Beckett, S.T., Industrial chocolate manufacture and use*, E.U.A, AVI, pp. 7 – 28.
- ◆ Heath, H.B. (1981), *Source Book of Flavors*, Wesport, Avi Publishing Company, Inc.
- ◆ [http://en.wikipedia.org/wiki/Nasal\\_cavity](http://en.wikipedia.org/wiki/Nasal_cavity) (consultado em 28 de Janeiro de 2009).
- ◆ <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/6/6f/Tongue-pt.png/250px-Tongue-pt.png> (consultado em 04 de Novembro de 2009).
- ◆ <http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/corpo-humano-sistema-sensorial/gustacao-paladar.php> (consultado em 04 de Novembro de 2009).
- ◆ Januszewska, R. (1996), *Chocolate Industry in a New European Perspective*, Faculty of Agricultural and Applied Biological Sciences, Universiteit Gent.
- ◆ Jinap, S.; Dimick, P. S. (1990), Acidic characteristics of fermented and dried cocoa beans from different countries of origin. *J. Food Sci.*, **55** (2): 547-550.
- ◆ JOCE (1991a), Determinação do teor de trilinoleína, *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*, N.º L248, Anexo VIII, pp. 29 – 32.
- ◆ JOCE (1991b), Análise por cromatografia em fase gasosa de ésteres metílicos de ácidos gordos, *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*, N.º L248, Anexo XA, pp. 36 – 43.
- ◆ JOCE (2002), Preparação dos ésteres metílicos dos ácidos gordos do azeite e do óleo de bagaço de azeitona, *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*, N.º L128, Anexo XB, pp.14 – 18.
- ◆ Kilcast, D. (1999), Sensory techniques to study food texture. *In: Rosenthal, A. J., Food Texture: measurement and perception*, Gaithersburg, Aspen Publishers, Inc., pp. 30 – 64.
- ◆ Kim, H. (1988), Isolation and characterization of polyphenol oxidase from cocoa beans, *Dissertation Abstracts International*, B **48** (10): 2834 (citado por Almeida, 1990).

- ◆ Lisa, M., Holcapek, M. (2008), Triacylglycerols profiling in plant oils important in food industry, dietetics and cosmetics using high-performance liquid chromatography – atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **1198 - 1199** : 115 – 130.
  
- ◆ Lopez *et al.* (1978), Optimum temperature and pH of invertase of the seeds of *Theobroma cacao* L., *Rev. Theobroma*, **8** (3): 105-112 (citado por Almeida, 1990).
  
- ◆ Lopez, A. S. (1986), Chemical changes occurring during the processing of cacao. *In*: Dimick, P. S. (ed.), *Proceedings of the cacao biotechnology symposium*, The Pennsylvania State University, pp. 19-53 (citado por Almeida, 1990).
  
- ◆ Martin, J. R. (1987), Chocolate, *Adv. Food Res.*, **31** : 211 – 342 (citado por Almeida, 1990).
  
- ◆ Martin, A. V., and Ferguson N. (1988), Packaging, *In*: Beckett, S.T., *Industrial chocolate manufacture and use*, E.U.A, AVI, pp. 305 – 323.
  
- ◆ Medeiros, A.G. (1965), *Combate à Podridão-Parda com o Emprego do Cacao Catongo*, Ilhéus, CEPLAC/CEPEC (citado por Neto et al., 2005).
  
- ◆ Minifie, B.W. (1989), *Chocolate Cocoa and Confectionery: Science and Technology*, Third Edition, New York, AVI Book.
  
- ◆ Moncrieff, R.W., (1967), *The Chemical Senses*, Second Edition, London, Leonard Hill Books (citado por Heath, 1981).
  
- ◆ Nelson R. B. (1988), Temperers, enrobers, moulding equipment and coolers, *In*: Beckett, S.T., *Industrial chocolate manufacture and use*, E.U.A, AVI, pp. 172 – 226.
  
- ◆ Neto et al. (2005), Caracterização de uma população de cacaueteiro para mapeamento de genes de resistência à vassoura-de-bruxa e podridão-parda, *Fitopatol. Bras.*, **30** (4): 380-385.
  
- ◆ NP-1656 (1980), *Cacao. Definições, classificação e acondicionamento*, Lisboa, Instituto Português da Qualidade.

- ◆ NP-1719 (1981), *Cacau e Produtos seus Derivados. Determinação da gordura*, Lisboa, Instituto Português da Qualidade.
- ◆ Oetterer, M. (2006), Tecnologias de Obtenção do Cacau, Produtos do Cacau e do Chocolate, *In: Oetterer, M. (coord.), Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, São Paulo, Manole, pp. 1-48.
- ◆ prNP-4263 (1994), *Análise Sensorial. Vocabulário*, Lisboa, Instituto Português da Qualidade (citado por Almeida, 1998)
- ◆ Quesnel, V. C. (1965), Agents inducing the death of cacao seeds during fermentation, *J. Sci. Food Agric.*, **16**: 441-447 (citado por Almeida, 1990).
- ◆ Rebelo, R. M. S. (2002), *A manteiga de cacau e a gordura do leite na indústria do chocolate* – Estudo de cinéticas de cristalização, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa.
- ◆ Rosa, J.C.P. (2001), *Formulação de Recheio Aromatizado para Bombom de Chocolate*, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa.
- ◆ Santos, A. M. Q. C. (1988), *Cultura e Tecnologia do Cacau – O caso especial de Bioko (Guiné Equatorial)*, Departamento de Ciências Agrárias, Universidade dos Açores.
- ◆ Timbie, D. J., Sechrist, L., Keeney, P. G. (1978), Application of high-pressure liquid chromatography to the study of variable affecting theobromine and caffeine concentration in cocoa beans, *J. Food Sci.*, **43** (2) : 560 – 565 (citado por Almeida, 1998).
- ◆ Toxopeus, H., (1987), Botany, types and populations, *In: Wood, G. A. R., Lass, R. A., Cocoa*, New York, Longman Scientific & Technical, pp. 11- 37.
- ◆ Villeneuve, F., Cros, E., Vincent, J.-C., Macheix, J. –J. (1989), Recherche d'un indice de fermentation du cacao: III. Evolution des flavan-3-ols de la fève, *Café Cacao Thé*, **33** (3): 165-170

- ◆ Wood, G. A. R., e Lass, R. A.,(1987), *Cocoa*, New York, Longman Scientific & Technical.

## **ANEXOS**

# ANEXO I

## Folha de Prova

**Provedor:**

**Data:**

**Idade:**

**Profissão:**

Estão presentes duas amostras para avaliação dos seus atributos. Verifique a seguinte escala e indique a sua avaliação para cada amostra.

0 = Ausente; 1 =Muito Ligeiro; 2 =Ligeiro; 3 = Moderado; 4 = Forte; 5 = Muito Forte

**Aparência:**

	<b>Amostra:</b>	<b>Amostra:</b>	<b>Referência:</b>
Cor Castanha			
Brilho			

**Cheiro:**

	<b>Amostra:</b>	<b>Amostra:</b>	<b>Referência:</b>
Chocolate			
Cacau			
Outro (Qual?)			

**Sabor:**

	<b>Amostra:</b>	<b>Amostra:</b>	<b>Referência:</b>
Cacau			
Doce			
Ácido			
Amargo			
Frutado			
Adstringente			
Outro (Qual?)			

**Textura:**

	<b>Amostra:</b>	<b>Amostra:</b>	<b>Referência:</b>
Duro			
Macio			
Granulado			
Outro (Qual?)			

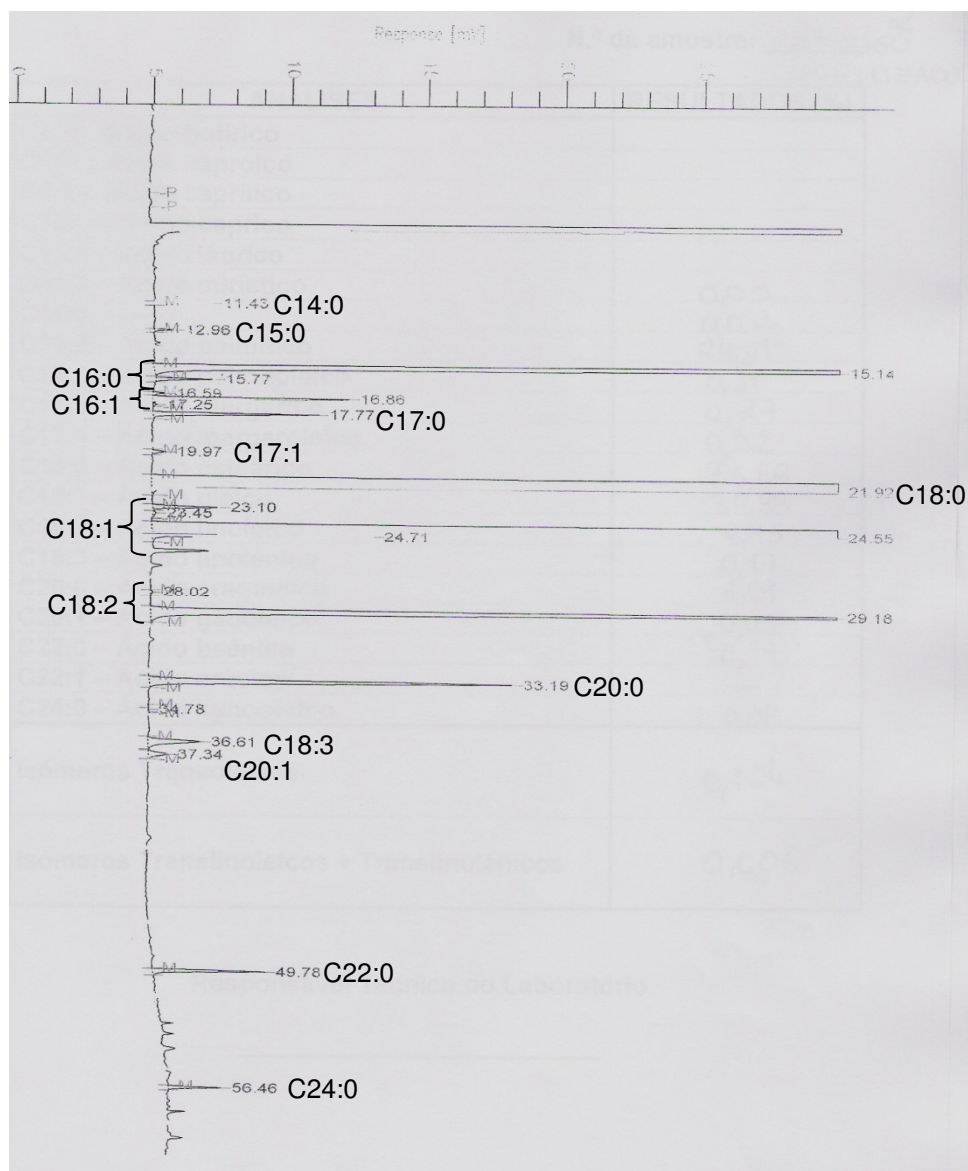
**Preferência:**

**Obrigado, pela sua colaboração!**

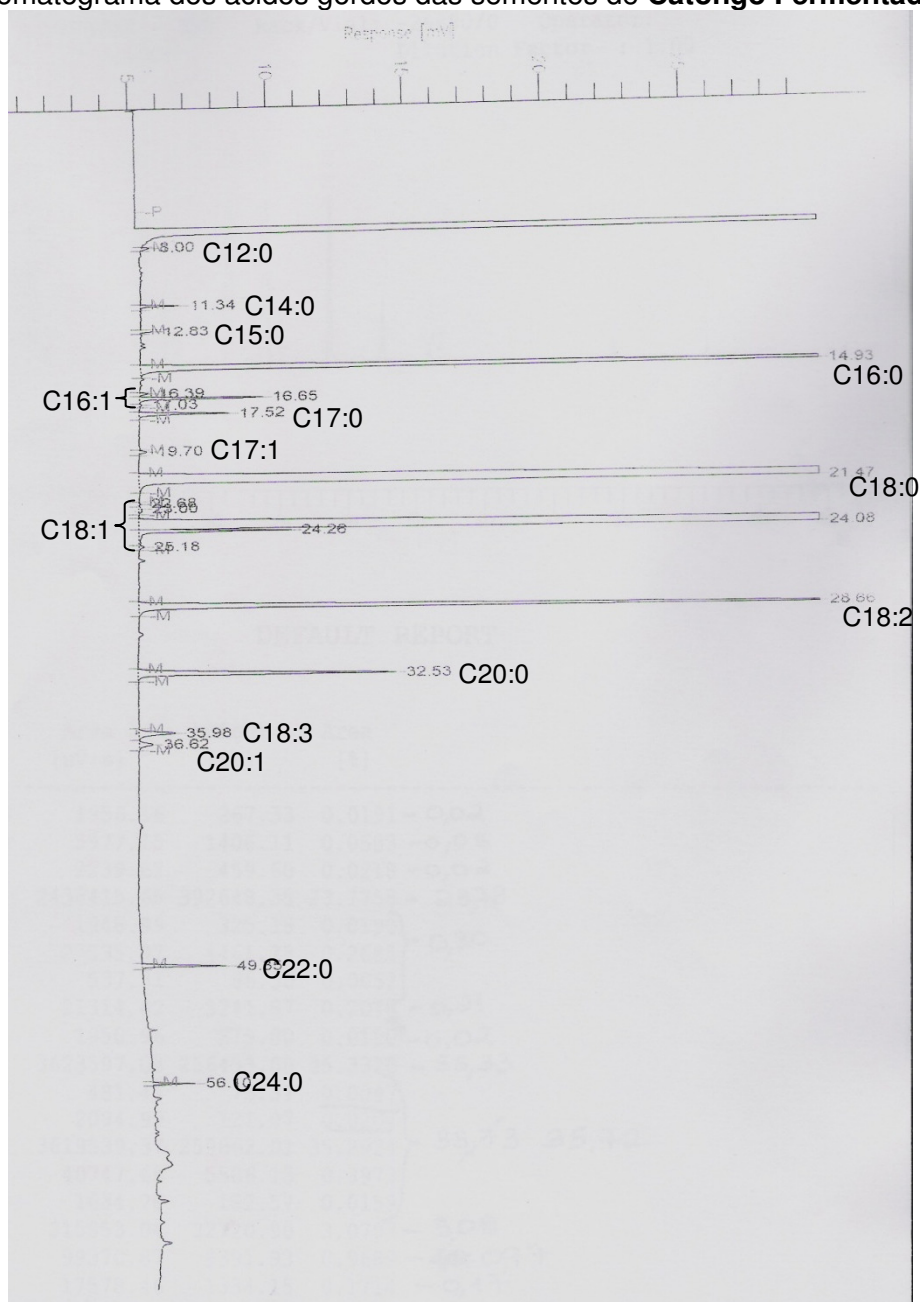
## ANEXO II

### Cromatogramas

Cromatograma dos ácidos gordos das sementes de **Catongo Não Fermentadas**

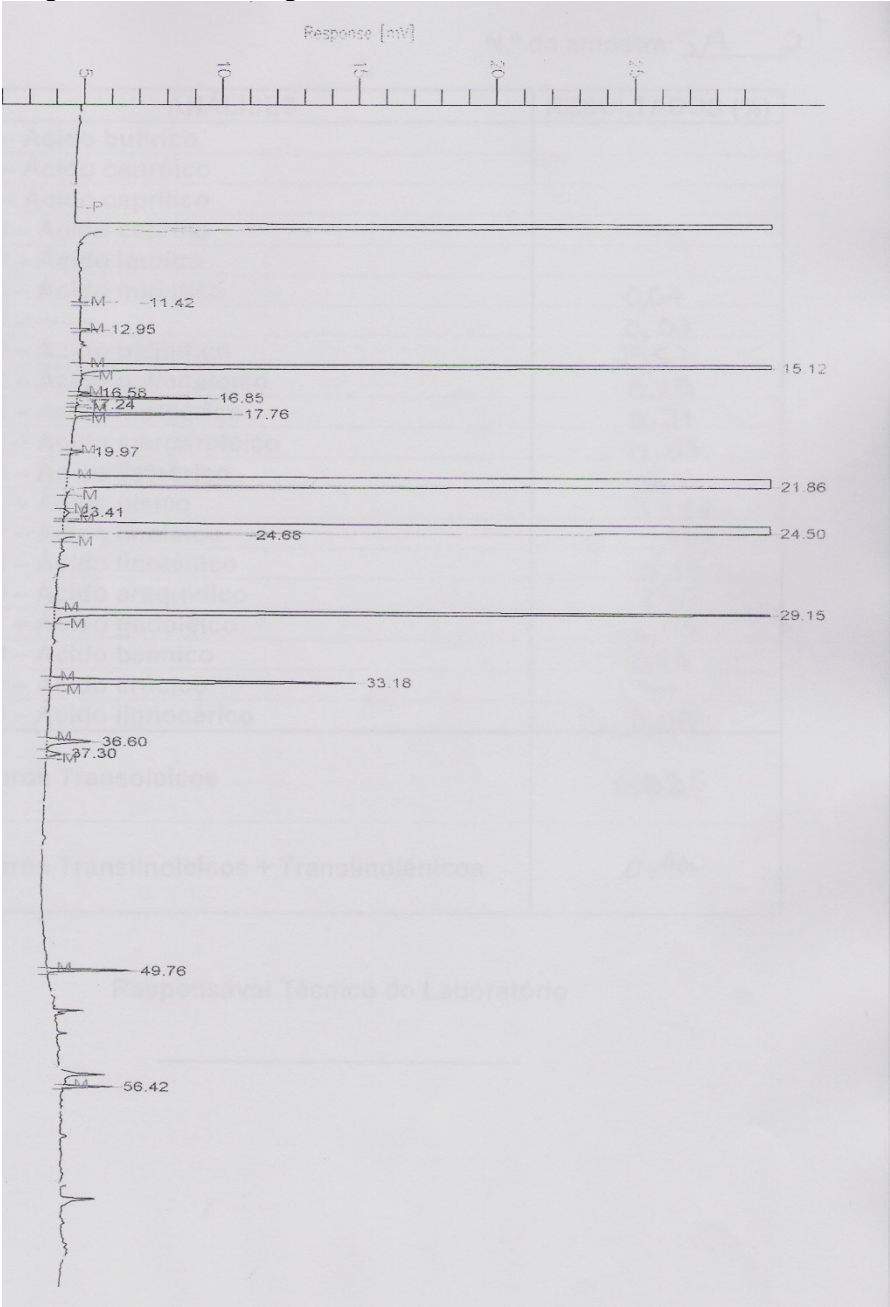


Cromatograma dos ácidos gordos das sementes de **Catongo Fermentadas**

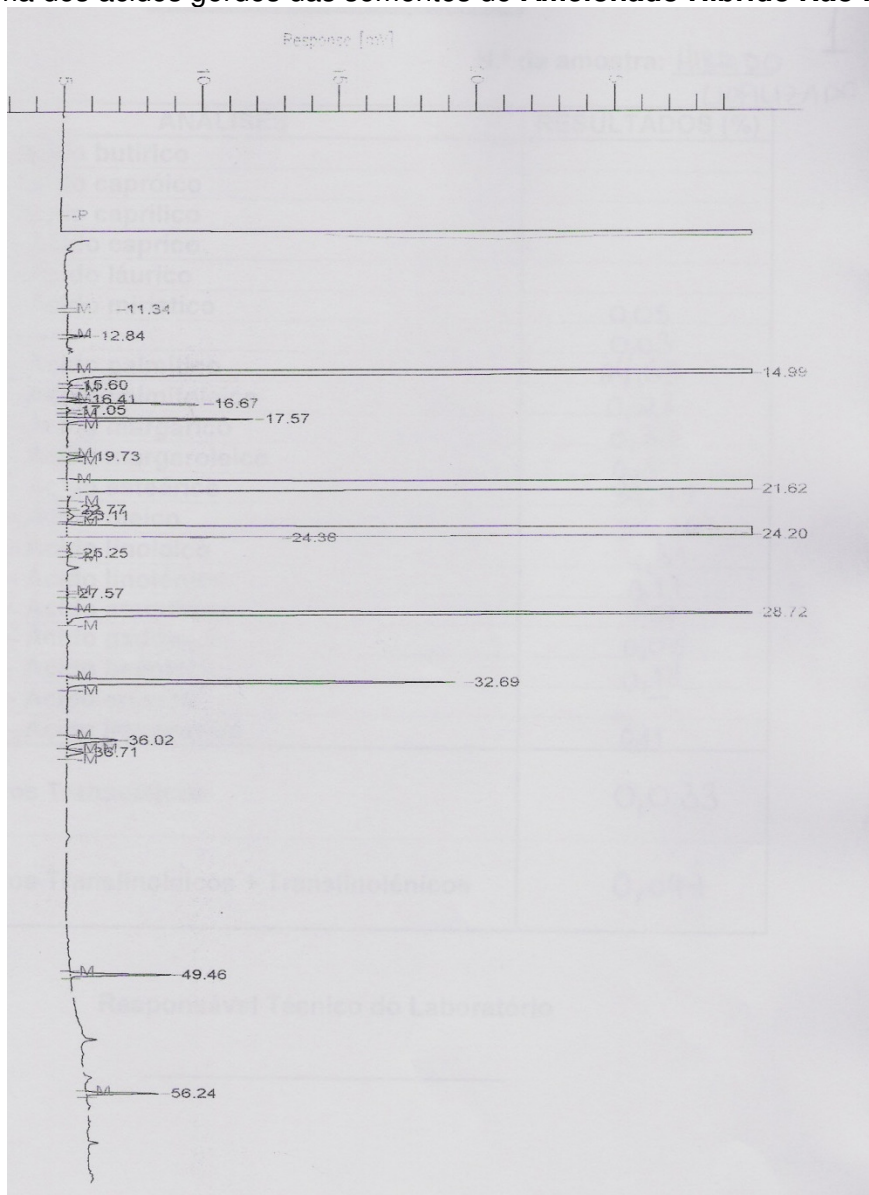




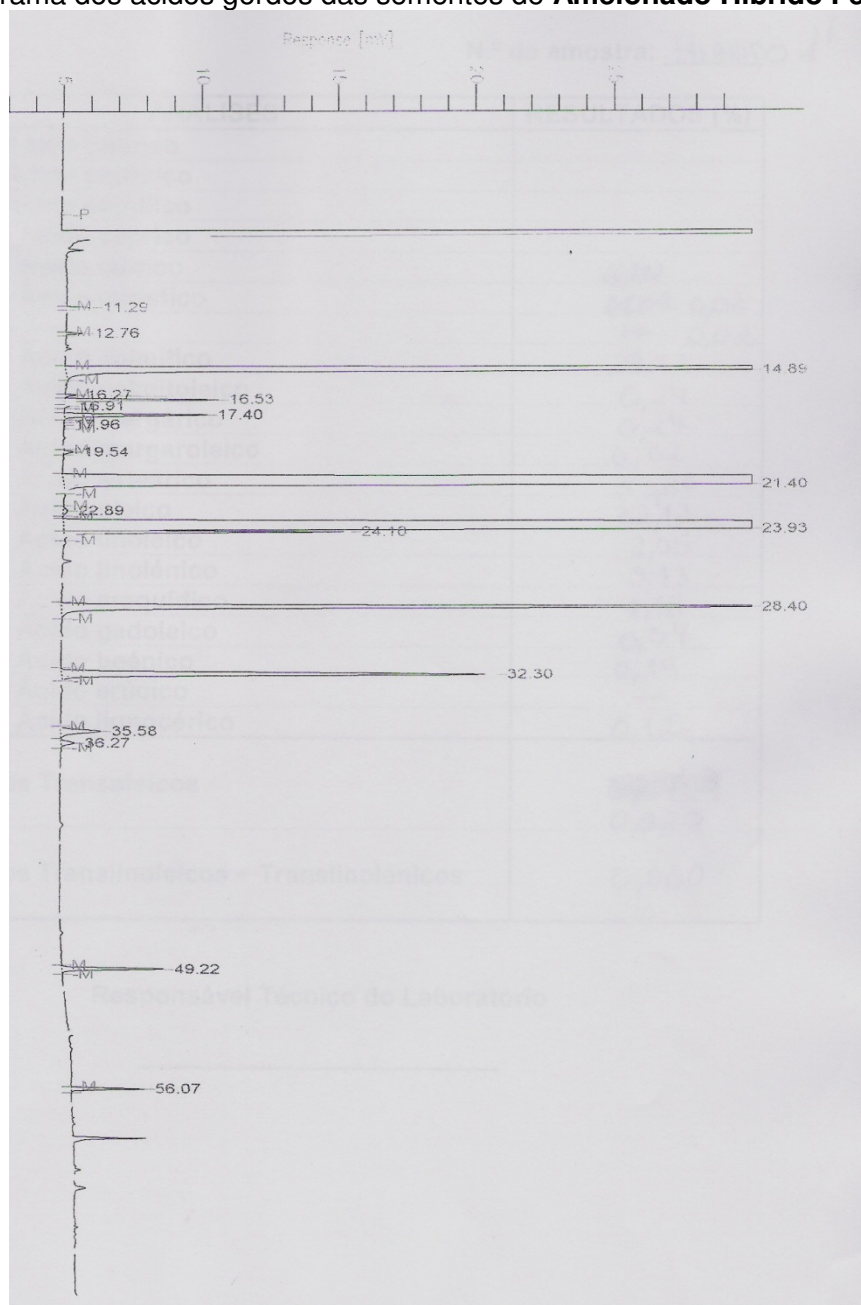
Cromatograma dos ácidos gordos das sementes de **Amelonado Fermentadas**



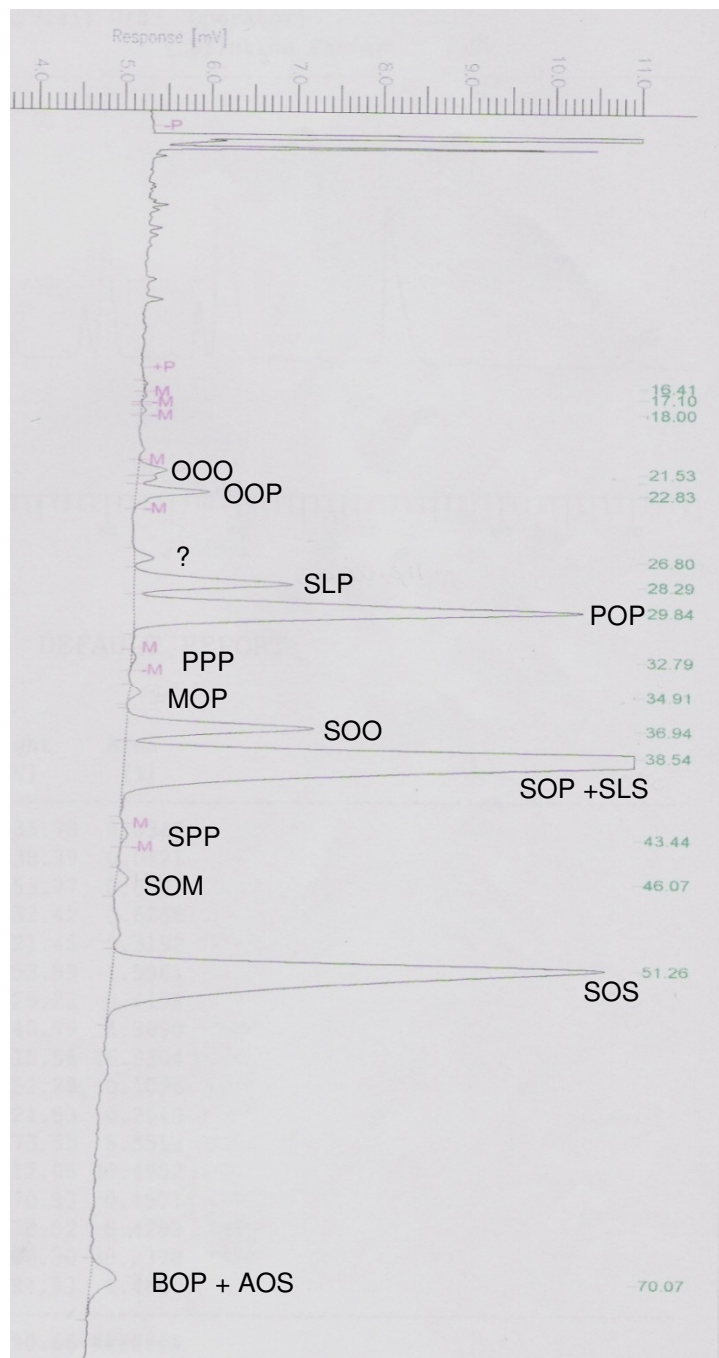
# Cromatograma dos ácidos gordos das sementes de **Amelonado Híbrido Não Fermentadas**



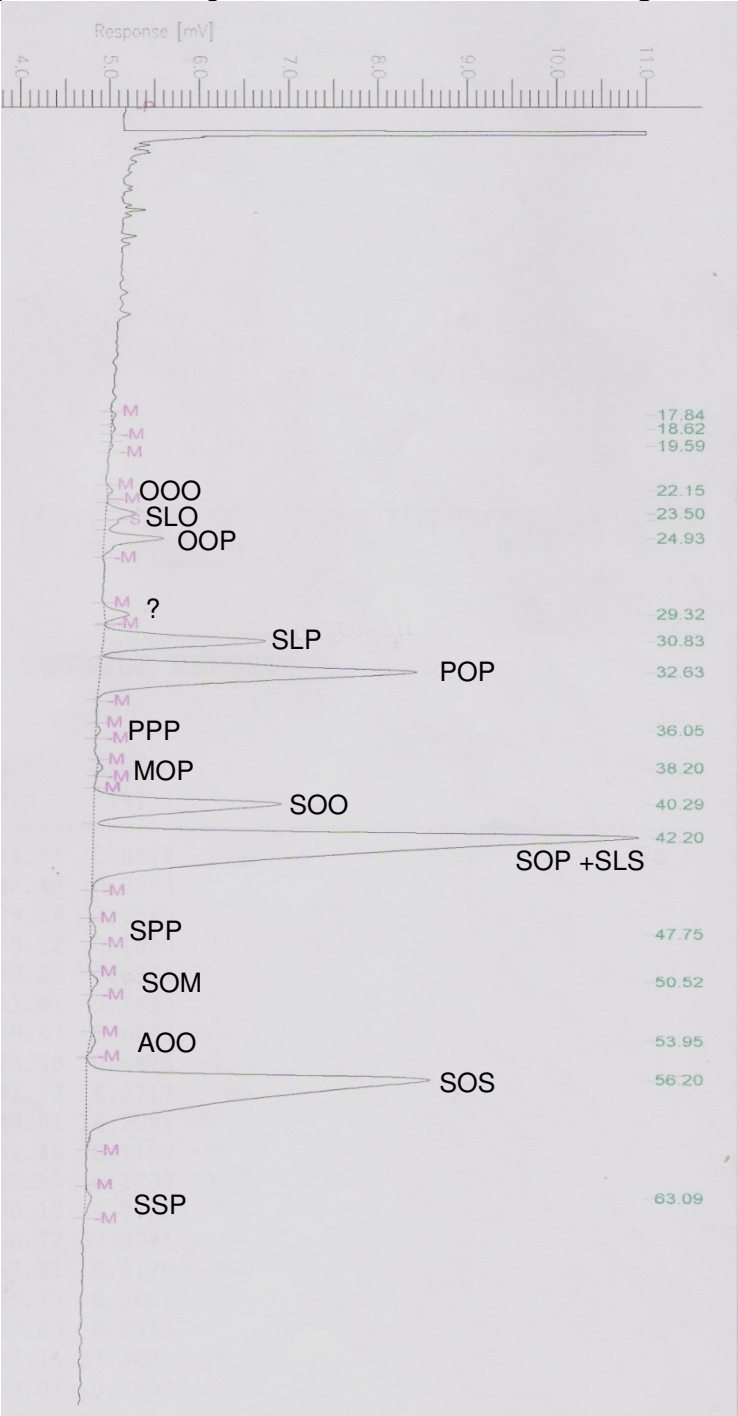
# Cromatograma dos ácidos gordos das sementes de **Amelonado Híbrido Fermentadas**



# Cromatograma dos triacilgliceróis das sementes de **Catongo Não Fermentadas**

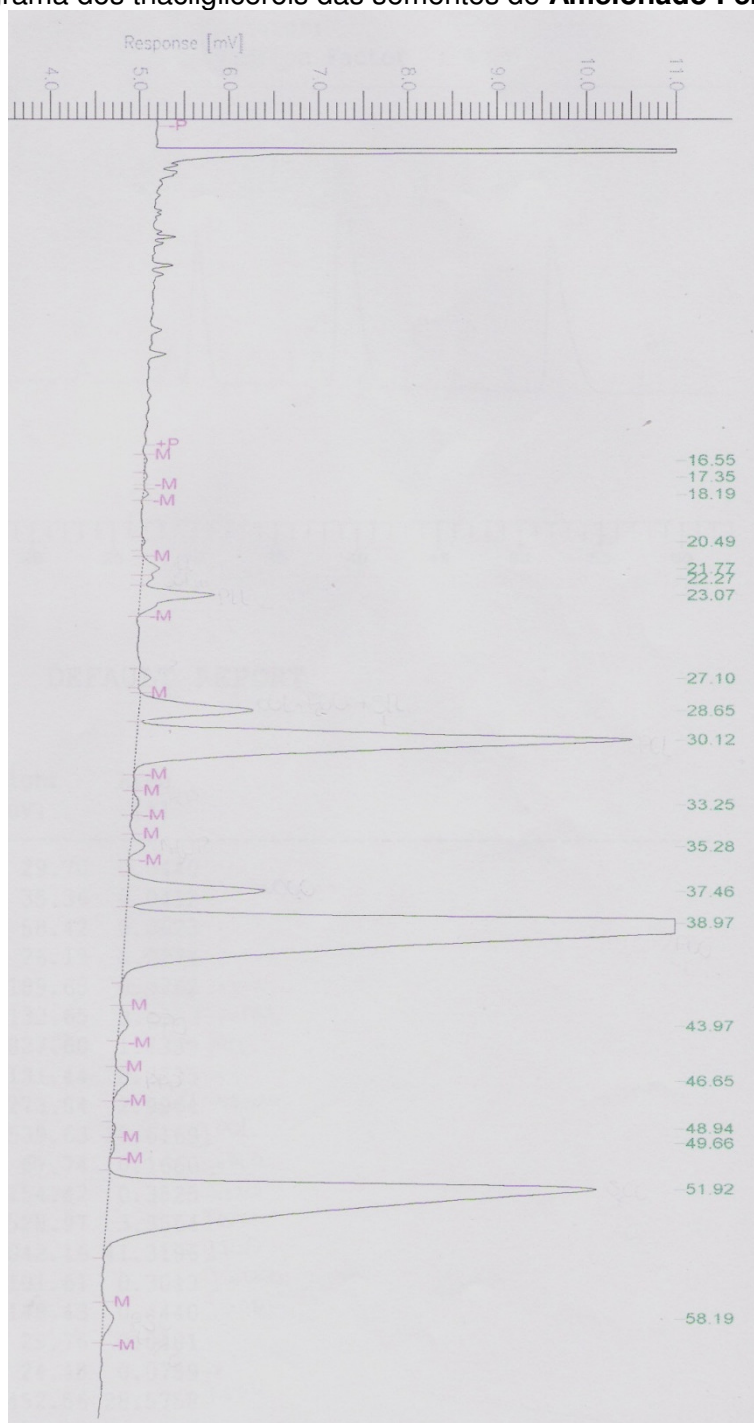


Cromatograma dos triacilgliceróis das sementes de **Catongo Fermentadas**

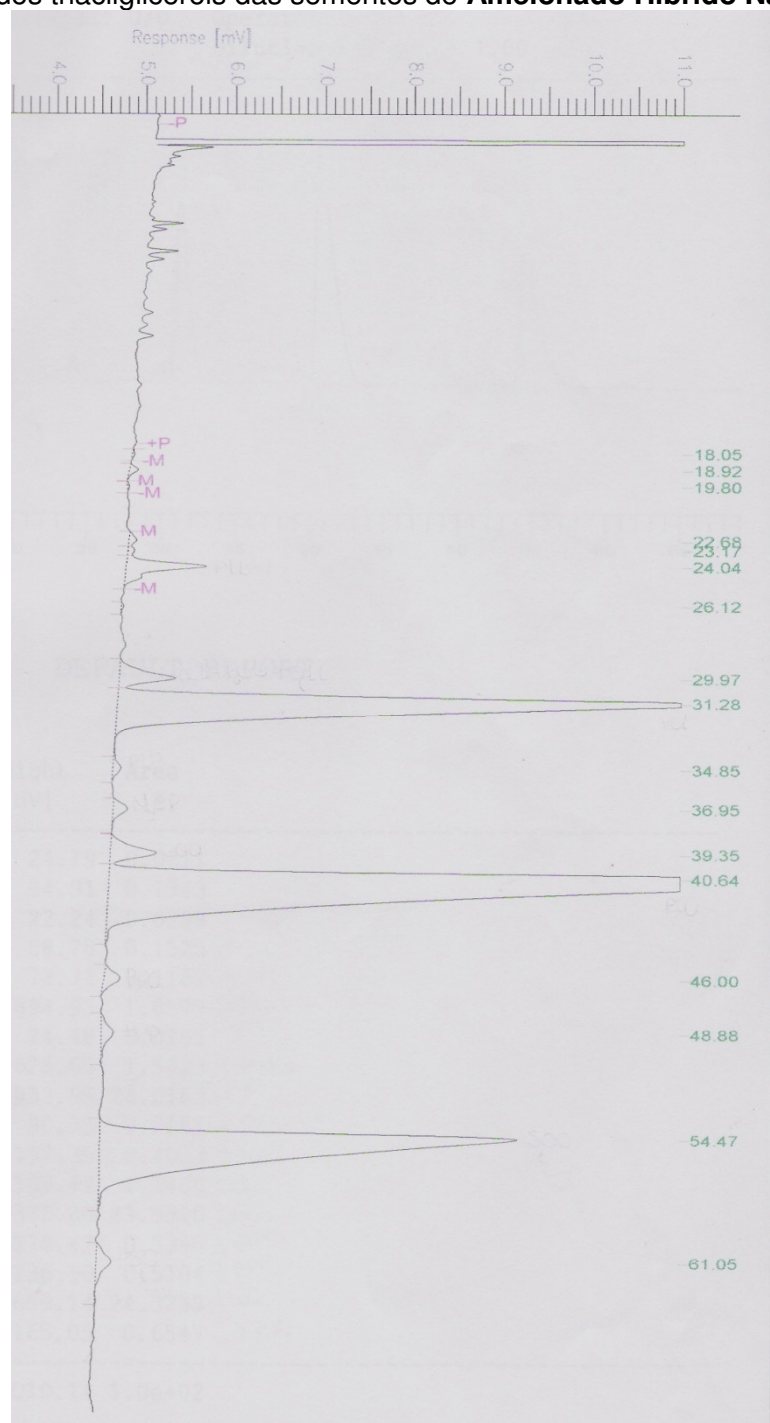




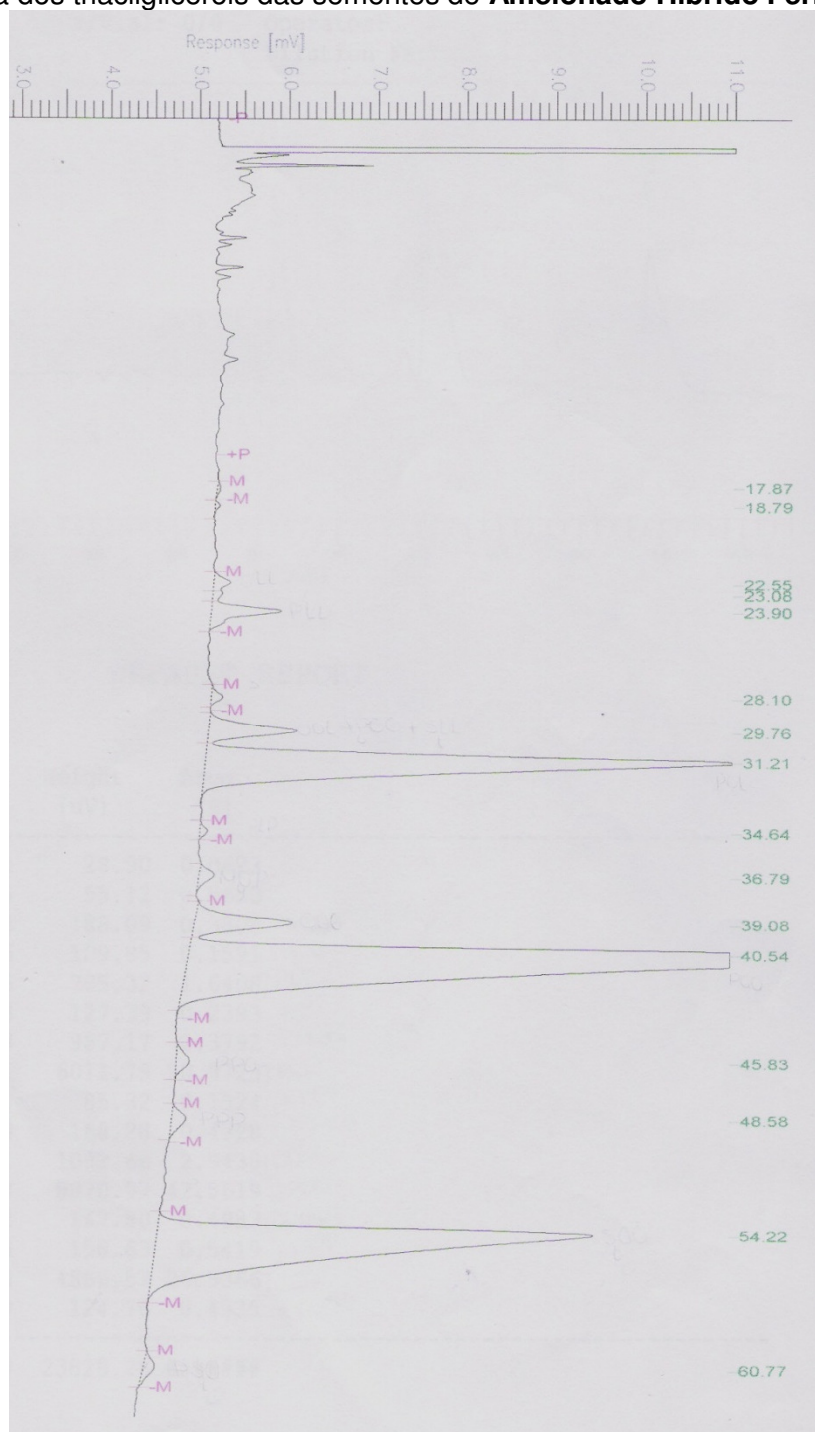
# Cromatograma dos triacilgliceróis das sementes de **Amelonado Fermentadas**



Cromatograma dos triacilgliceróis das sementes de **Amelonado Híbrido Não Fermentadas**

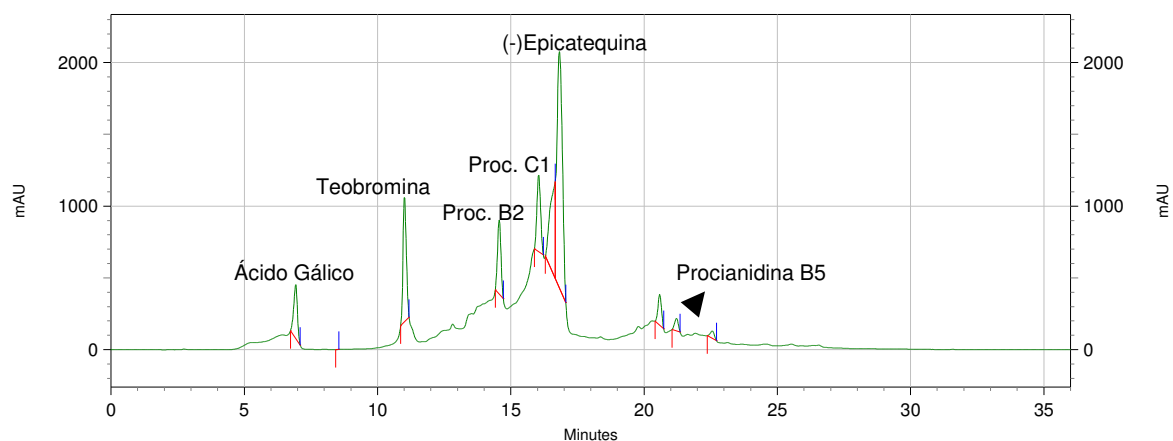


# Cromatograma dos triacilgliceróis das sementes de **Amelonado Híbrido Fermentadas**

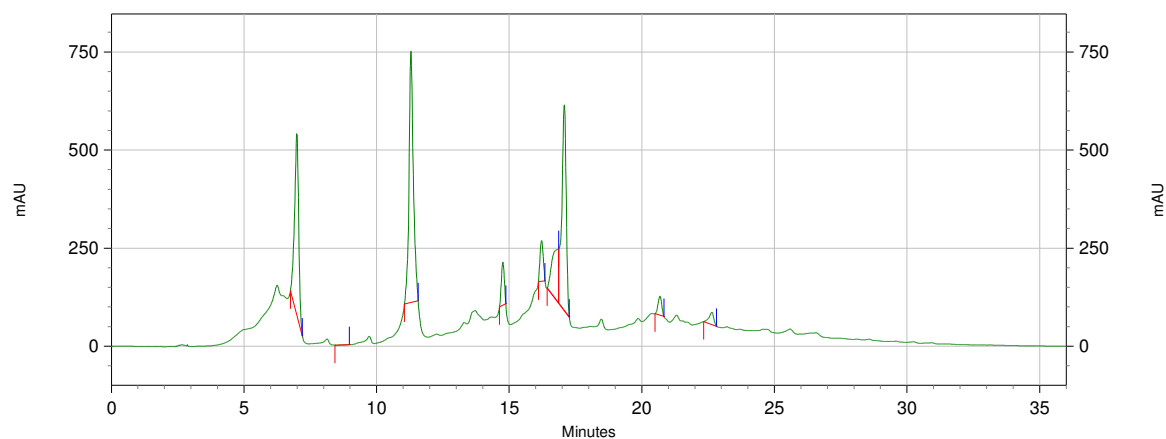




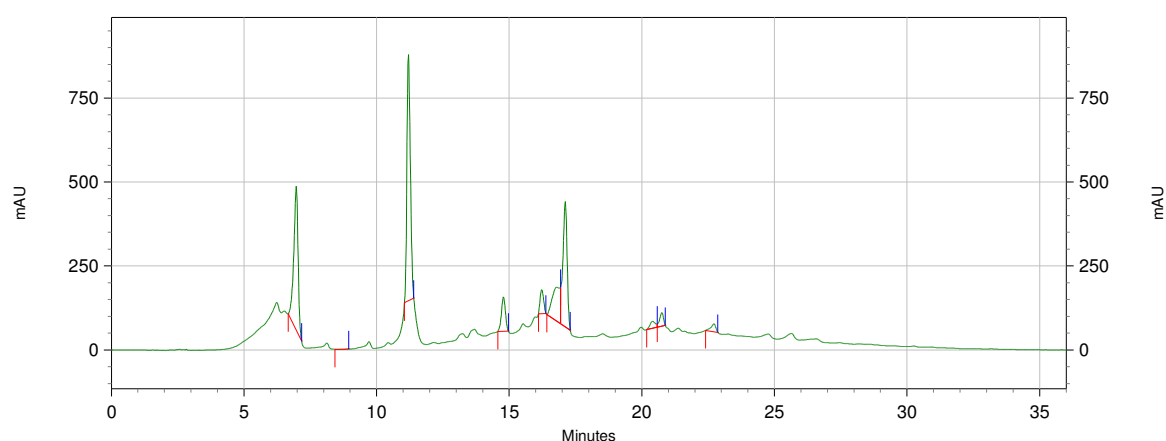
### Cromatograma da (-)epicatequina e procianidinas das sementes de **Catongo Não Fermentadas**



### Cromatograma da (-)epicatequina e procianidinas das sementes de **Catongo Fermentadas**



### Cromatograma da (-)epicatequina e procianidinas das sementes de **Amelonado Fermentadas**



## ANEXO III

### Tratamento estatístico dos dados referentes às determinações de ácidos gordos, triacilgliceróis, fenóis totais e (-)epicatequina + procianidinas

#### Anova: Ácidos Gordos

##### SUMMARY

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
Catongo não fermentado	16	100,13	6,26	164,31
Catongo fermentado	16	100,03	6,25	164,99
Amelonado fermentado	15	100,03	6,67	173,85
Amelonado Híbrido não fermentado	16	97,08	6,07	155,18
Amelonado Híbrido fermentado	15	99,98	6,67	171,53

##### ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	4,53	4,00	1,13	0,0068	0,9999	2,4971
Within Groups	12102,59	73,00	165,79			
Total	12107,12	77,00				

#### Anova: Triacilgliceróis

##### SUMMARY

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
Catongo não fermentado	14	99,86	7,13	152,59
Catongo fermentado	15	99,54	6,64	133,05
Amelonado fermentado	15	99,78	6,65	159,66
Amelonado Híbrido não fermentado	13	99,78	7,68	195,92
Amelonado Híbrido fermentado	14	99,87	7,13	173,94

##### ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	10,18	4,00	2,55	0,0157	0,9995	2,5108
Within Groups	10694,00	66,00	162,03			
Total	10704,18	70,00				

## Anova: Fenóis

### SUMMARY

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
		164,7		
Catongo não fermentado	2	4	82,37	0,94669
Catongo fermentado	2	68,51	34,26	0,01748
Amelonado fermentado	2	59,45	29,73	0,51511
Amelonado Híbrido não fermentado	2	168,5	84,30	0,12802
Amelonado Híbrido fermentado	2	93,06	46,53	0,00005

### ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
	5494,6494			4273,057	0,00000	5,192
Between Groups	63	4	1373,66	5	0005	2
Within Groups	1,607353	5	0,32			
	5496,2568					
Total	16	9				

## Anova: (-)epicatequina e procianidinas

### SUMMARY

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
Catongo não fermentado	5	36,42	7,28	54,82
Catongo fermentado	5	8,67	1,73	3,10
Amelonado fermentado	5	7,74	1,55	2,81

### ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	106,23	2	53,12	2,6240	0,1134	3,8853
Within Groups	242,91	12	20,24			
Total	349,14	14				

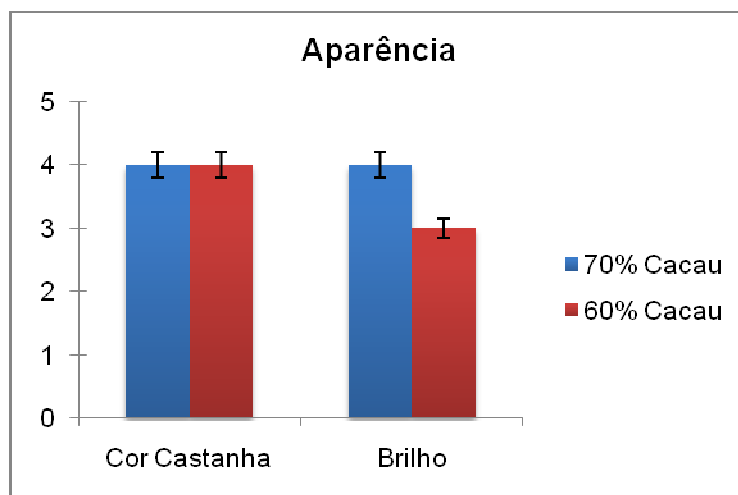
## ANEXO IV

### Análise sensorial

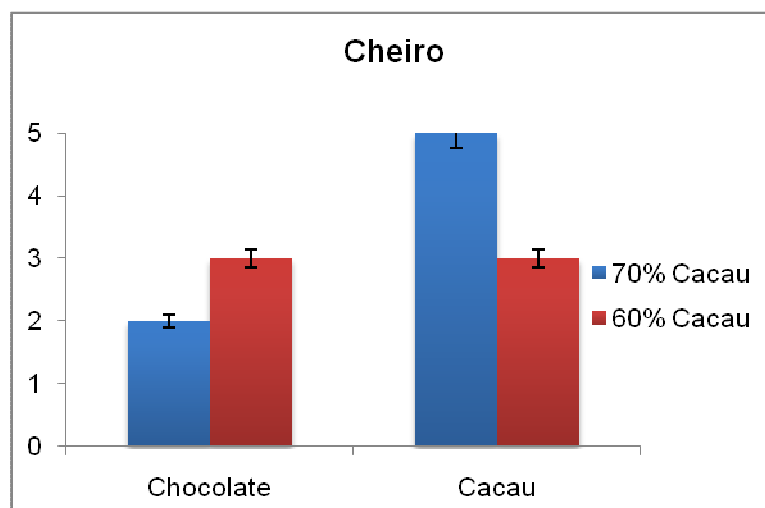
**Quadro 1** - Notação atribuída aos diferentes atributos sensoriais analisados nas amostras durante a prova preliminar

Atributos Sensoriais	Amostras	
	70% cacau	60% cacau
<b>Aparência</b>		
<b>Cor Castanha</b>	4	4
<b>Brilho</b>	4	3
<b>Cheiro</b>		
<b>Chocolate</b>	2	3
<b>Cacau</b>	5	3
<b>Sabor</b>		
<b>Cacau</b>	4	3
<b>Doce</b>	2	3
<b>Ácido</b>	3	2
<b>Amargo</b>	5	3
<b>Frutado</b>	0	0
<b>Adstringente</b>	1	0
<b>Textura</b>		
<b>Duro</b>	1	3
<b>Macio</b>	2	2
<b>Granulado</b>	3	2

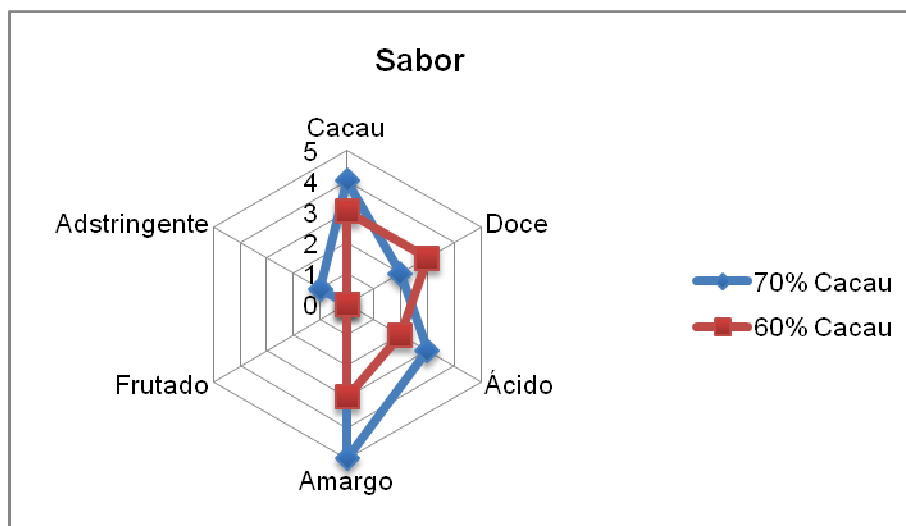
\*Valores médios para o conjunto dos provadores; escala: 0-5



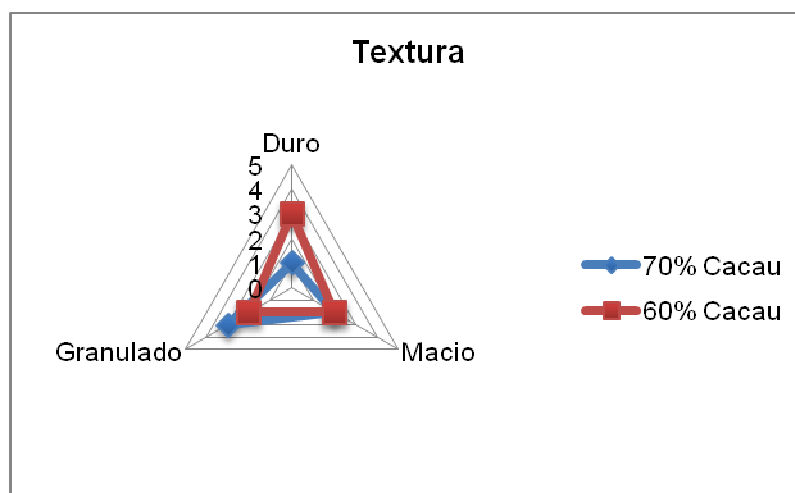
**Figura 1** – Notação média atribuída aos atributos relativos à aparência, para bombons com diferentes teores de cacau.



**Figura 2** – Notação média atribuída aos atributos relativos ao cheiro, para bombons com diferentes teores de cacau.



**Figura 3** – Notação média atribuída aos atributos relativos ao sabor e à adstringência, para bombons com diferentes teores de cacau.



**Figura 4** – Notação média atribuída aos atributos relativos à textura, para bombons com diferentes teores de cacau.

## ANEXO V

### Tratamento estatístico para a primeira prova sensorial final

**Quadro 2** – Notação\* atribuída aos diferentes atributos sensoriais analisados nas amostras na primeira prova final

Atributos Sensoriais	Amostras		
	Catongo Fermentado	Amelonado Fermentado	Amelonado Híbrido Fermentado
<b>Aparência</b>			
<b>Cor Castanha</b>	2	4	4
<b>Brilho</b>	1	1	2
<b>Cheiro</b>			
<b>Chocolate</b>	3	2	2
<b>Cacau</b>	2	3	3
<b>Sabor</b>			
<b>Cacau</b>	2	3	3
<b>Doce</b>	4	2	3
<b>Ácido</b>	1	0	1
<b>Amargo</b>	2	2	2
<b>Frutado</b>	1	1	1
<b>Adstringente</b>	0	1	0
<b>Textura</b>			
<b>Duro</b>	1	2	2
<b>Macio</b>	3	2	3
<b>Granulado</b>	2	3	2

\*Valores médios para o conjunto dos provadores; escala: 0-5

### Anova: Aparência

#### SUMMARY

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
<b>A</b> – Cor Castanha	7	26	3,71	0,24
<b>A</b> – Brilho	7	8	1,14	0,48
<b>C</b> – Cor Castanha	7	17	2,43	0,62
<b>C</b> – Brilho	7	9	1,29	0,57
<b>AH</b> – Cor Castanha	7	30	4,29	1,24
<b>AH</b> - Brilho	7	12	1,71	0,57

A – Amelonado; C- Catongo; AH – Amelonado Híbrido

## ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	60,00	5,00	12,00	19,3846	0,0000000003	2,4772
Within Groups	22,29	36,00	0,62			
Total	82,29	41,00				

**Anova: Cheiro**

## SUMMARY

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
<b>A</b> – Chocolate	7	16	2,29	1,24
A - Cacau	7	22	3,14	1,14
<b>C</b> – Chocolate	7	18	2,57	1,29
C – Cacau	7	15	2,14	1,14
<b>AH</b> – Chocolate	7	16	2,29	0,57
AH - Cacau	7	20	2,86	2,14

A – Amelonado; C- Catongo; AH - Amelonado Híbrido

## ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	5,26	5,00	1,05	0,8392	0,5308	2,4772
Within Groups	45,14	36,00	1,25			
Total	50,40	41,00				



## Anova: Sabor

### SUMMARY

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
<b>A</b> – Cacau	7	18	2,57	0,62
A – Doce	7	14	2,00	1,00
A – Ácido	7	3	0,43	1,29
A – Amargo	7	16	2,29	1,57
A – Frutado	7	6	0,86	0,48
A – Adstringente	7	4	0,57	0,29
<b>C</b> – Cacau	7	17	2,43	0,62
C - Doce	7	25	3,57	0,62
C – Ácido	7	4	0,57	1,29
C – Amargo	7	12	1,71	0,90
C – Frutado	7	4	0,57	0,62
C – Adstringente	7	3	0,43	0,29
<b>AH</b> – Cacau	7	21	3,00	1,67
AH – Doce	7	19	2,71	0,90
AH – Ácido	7	4	0,57	2,29
AH – Amargo	7	15	2,14	0,81
AH – Frutado	7	6	0,86	0,48
AH - Adstringente	7	3	0,43	0,29

A – Amelonado; C- Catongo; AH - Amelonado Híbrido

### ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	133,30	17	7,84	8,8214	0,00000000000001	1,7182
Within Groups	96,00	108	0,89			
Total	229,30	125				

## Anova: Textura

### SUMMARY

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
<b>A</b> - Duro	7	14	2,00	0,00
A – Macio	7	17	2,43	0,62
A - Granulado	7	22	3,14	0,48
<b>C</b> – Duro	7	8	1,14	0,14
C – Macio	7	24	3,43	3,29
C – Granulado	7	16	2,29	1,57
<b>AH</b> – Duro	7	14	2,00	0,00
AH – Macio	7	19	2,71	0,90
AH - Granulado	7	16	2,29	0,57

A – Amelonado; C- Catongo; AH - Amelonado Híbrido

## ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	25,43	8	3,18	3,778	0,001	2,115
Within Groups	45,43	54	0,84			
Total	70,86	62				

### Tratamento estatístico para a segunda prova sensorial final

**Quadro 3** – Notação\* atribuída aos diferentes atributos sensoriais analisados nas amostras na segunda prova final

Atributos Sensoriais	Amostras		
	Catongo Fermentado	Amelonado Fermentado	Amelonado Híbrido Fermentado
<b>Aparência</b>			
<b>Cor Castanha</b>	2	4	4
<b>Brilho</b>	1	0	1
<b>Cheiro</b>			
<b>Chocolate</b>	2	2	3
<b>Cacau</b>	3	4	3
<b>Sabor</b>			
<b>Cacau</b>	2	3	3
<b>Doce</b>	4	3	3
<b>Ácido</b>	0	0	0
<b>Amargo</b>	1	3	2
<b>Frutado</b>	0	1	0
<b>Adstringente</b>	0	0	0
<b>Textura</b>			
<b>Duro</b>	2	2	3
<b>Macio</b>	2	3	2
<b>Granulado</b>	2	3	3

\*Valores médios para o conjunto dos provadores; escala: 0-5

## Anova: Aparência

### SUMMARY

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
<b>A</b> – Cor Castanha	7	28	4,00	0,67
A - Brilho	7	1	0,14	0,14
<b>C</b> – Cor Castanha	7	17	2,43	0,62
C - Brilho	7	4	0,57	2,29
<b>AH</b> – Cor Castanha	7	27	3,86	0,81
AH - Brilho	7	4	0,57	1,29

A – Amelonado; C- Catongo; AH - Amelonado Híbrido

### ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	105,93	5	21,19	21,8803	0,000000001	2,4772
Within Groups	34,86	36	0,97			
Total	140,79	41				

## Anova: Cheiro

### SUMMARY

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
<b>A</b> – Chocolate	7	17	2,43	1,62
A - Cacau	7	25	3,57	0,29
<b>C</b> – Chocolate	7	17	2,43	1,29
C – Cacau	7	18	2,57	0,62
<b>AH</b> – Chocolate	7	18	2,57	1,29
AH - Cacau	7	24	3,43	1,62

A – Amelonado; C- Catongo; AH - Amelonado Híbrido

### ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	9,55	5	1,91	1,706	0,158	2,477
Within Groups	40,29	36	1,12			
Total	49,83	41				

## Anova: Sabor

### SUMMARY

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
<b>A</b> – Cacau	7	19	2,71	0,57
A – Doce	7	20	2,86	0,81
A – Ácido	7	2	0,29	0,24
A – Amargo	7	18	2,57	0,95
A – Frutado	7	6	0,86	1,14
A – Adstringente	7	3	0,43	0,62
<b>C</b> – Cacau	7	14	2,00	0,00
C – Doce	7	25	3,57	0,62
C – Ácido	7	2	0,29	0,24
C – Amargo	7	7	1,00	0,33
C – Frutado	7	3	0,43	0,62
C - Adstringente	7	3	0,43	0,62
<b>AH</b> – Cacau	7	20	2,86	0,48
AH – Doce	7	21	3,00	1,00
AH – Ácido	7	3	0,43	0,29
AH – Amargo	7	17	2,43	0,95
AH - Frutado	7	3	0,43	0,62
AH - Adstringente	7	3	0,43	0,62

A – Amelonado; C- Catongo; AH - Amelonado Híbrido

### ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	171,21	17	10,07	16,9200	4,21934E-23	1,7182
Within Groups	64,29	108	0,60			
Total	235,50	125				

## Anova: Textura

### SUMMARY

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
<b>A</b> – Duro	7	16	2,29	0,57
A – Macio	7	18	2,57	1,29
A – Granulado	7	22	3,14	2,14
<b>C</b> – Duro	7	17	2,43	0,62
C – Macio	7	16	2,29	0,90
C - Granulado	7	16	2,29	1,24
<b>AH</b> – Duro	7	18	2,57	0,95
AH – Macio	7	17	2,43	0,95
AH – Granulado	7	23	3,29	0,90

A – Amelonado; C- Catongo; AH - Amelonado Híbrido

## ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	7,84	8	0,980	0,9216	0,5062	2,1152
Within Groups	57,43	54	1,063			
Total	65,27	62				